



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI ANTIOKSIDAN SENYAWA  
ANTOSIANIN DARI BUAH PUCUK MERAH (.*Syzygium  
campanulatum* Korth.) SERTA APLIKASI SEBAGAI PEWARNA  
ALAMI**

**SKRIPSI**



**SUKMANING SYAHRI  
0810412036**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2012**

# بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Allah, tidak ada Tuhan (yang berhak disembah) melainkan Dia Yang Hidup kekal lagi terus menerus mengurus (makhluk-Nya); tidak mengantuk dan tidak tidur. Kepunyaan-Nya apa yang di langit dan di bumi. Tiada yang dapat memberi syafa'at di sisi Allah tanpa izin-Nya? Allah mengetahui apa-apa yang di hadapan mereka dan di belakang mereka, dan mereka tidak mengetahui apa-apa dari ilmu Allah melainkan apa yang dikehendaki-Nya. Kursi Allah meliputi langit dan bumi. Dan Allah tidak merasa berat memelihara keduanya, dan Allah Maha Tinggi lagi Maha Besar. (QS : Al-Baqarah : 255)

Diantara butir – butir keringat yang bercucuran  
Akhirnya, hari ini sebuah keberhasilan telah kucapai.....  
Namun perjalanan ini masih panjang.....  
Dan harapan belumlah usai.....  
Kuraih suatu asa dengan penuh pengorbanan, kini kuraih sekeping cita-cita....  
Kugenggam segumpal harapan dan kunikmati setitik keberhasilan  
Semua karena rahmat-Mu Ya Allah.....

Alhamdulillah.....  
Dengan seizin dan ridho-Mu Ya Allah....  
Kupersembahkan hasil karyaku sebagai tanda cinta dan baktiku  
Kepada keluarga besar ku yang sangat kucintai dan kusayangi  
Pada ayah (Andi Suparno) dan Ibu (N. Sukasni) serta kakak ku  
(Masnur As dan Suparmi) serta keponakan kecilku (Armyasih Inono)  
Yang telah memberikan dorongan, moral, spriritual dan semangat  
juang dalam menyelesaikan kewajibanku .....  
di Kampus hijau Jurusan Kimia FMIPA.....

## Special thank's to:

Buat ayah dan ibu, serta kakak ku.....  
Dalam gelap ada cahaya mu yang menyinari hidupku.....  
Seandainya aku mampu kan ku korbankan kebahagiaanku untuk membahagiakanmu  
Thank's atas segala perhatian, doa, pengorbanan  
dan kasih sayangmu dalam menuntunku.....  
Sehingga ku bisa jadi seperti sekarang ini.....  
Semoga apa yang telah engkau berikan menjadi mutiara yang indah



Untuk pembimbing dan selaku dosen ku (Bapak Dr. Djaswir Darwis MS, DEA dan Bapak Adlis Santoni, MS), terimakasih atas segala ilmu yang telah diberikan, semangat dan perhatian nya.....  
dalam menyelesaikan penelitian ku.....  
Serta tak lupa juga semua dosen jurusan kimia.....  
yang telah memberi banyak ilmu yang bermanfaat kepada ku.....

Tuk My Sweetheart Riki Yulianti ST.....  
Dengan segala pengorbanannya yang tak akan ku lupakan  
Yang telah memberi semangat dan warna dalam hidupku  
Yang selalu menemani hari-hari ku dengan perhatian dan kasih sayang  
Yang begitu besar buatku.....

Teruntuk sahabat-sahabat ku :

Sahabat-sahabat ku yang telah memberikan semangat, canda, dan kebersamaan  
Selama perkuliahan dan selama penelitian ku.....  
Teman2 KOBIA (Manda, Ayu, Niar, Meri, Yurna, Ridiha, Tia, Fani, Bang Kiki,  
So'im, Andy, Whendy, Irvan, Fathur, Ismail, Aldi, Beni, Miko, Mas Abdi)  
Kakak-kakak (Kak Liza, Bang Feri, Bang Atay, Kak Wanda, Kak Iin, Kak Citra,  
Kak Rizka dan Kak Amelia BNPB)  
Serta tak lupa juga untuk Zulfa, Ryce, Rike, Neri, Elisa, Fauzan, Wezy, Wilda  
Liona, Yunce, Tata, Nina, Mbak Asep, Ainur, Ridiho, Rosi, Ante Yosi, Lola, Prima,  
Riri, Wilda Rahmi, Ai Bocet, Sandy, Pendri, Dwi, Yeni, Resty, Lily, Chintia, Cici,  
Bela, Yani, Rora, Fitri, Mia, dan teman2 lain d'chaos '08 yang tak tersebut namanya  
thank's banget ya, semoga apa yang dicita-citakan dapat tercapai.....

Terimalah ini sebagai salah satu wujud baktiku  
Atas kasih sayang dan perhatian yang telah diberikan  
Semoga dengan keberhasilan ini merupakan titik awal  
Dari perjuangan ku dimasa mendatang dan ilmu yang  
Kuperoleh dapat kupergunakan untuk, agama, bangsa, dan negara.....  
Amienn.....

Sanang hatiko akhirnya wak wisuda juo  
Hore.....hore.....hore.....hore..... karajo lai, S2 lai.....  
Selamat berjaya kampus hijau (UNAND).....  
N makasih UNAND.....

Sukmaning Syahri, S.Si



## KATA PENGANTAR



Puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia yang tiada henti kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan makalah hasil yang Berjudul **Isolasi, Identifikasi, dan Uji Antioksidan Senyawa Antosianin Dari Buah Pucuk Merah (*syzygium campanulatum* korth.) Serta Aplikasi Sebagai Pewarna Alami.**

Makalah ini ditulis sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S1) yang didapat dari penelitian bidang Kimia Organik Bahan Alam di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas Padang.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Orang tua serta keluarga yang telah memberikan dorongan moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan hingga jenjang perguruan tinggi.
2. Bapak Dr. Adlis Santoni selaku Ketua Jurusan Kimia.
3. Bapak Prof. Dr. Emriadi selaku Dekan Fakultas MIPA.
4. Bapak Dr. Djaswir Darwis, MS. DEA dan Bapak Dr. Adlis Santoni selaku pembimbing yang telah memberikan banyak ilmu, nasehat, bimbingan dan arahan selama penulis melakukan penelitian dan penulisan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Afrizal, Bapak Bustanul Arifin M.Si, dan Ibu Imelda M.Si selaku penguji yang telah memberi banyak ilmu, nasehat dan saran dalam menyempurnakan skripsi.
6. Ibu Prof. Dr. Sumaryati syukur, M.Sc selaku dosen pembimbing akademik yang telah meberikan nasehat dan motivasi akademik.
7. Dr. Mai Efdi M.Si sebagai koordinator pendidikan yang telah memberikan perhatian dan berbagi ilmu kepada penulis.

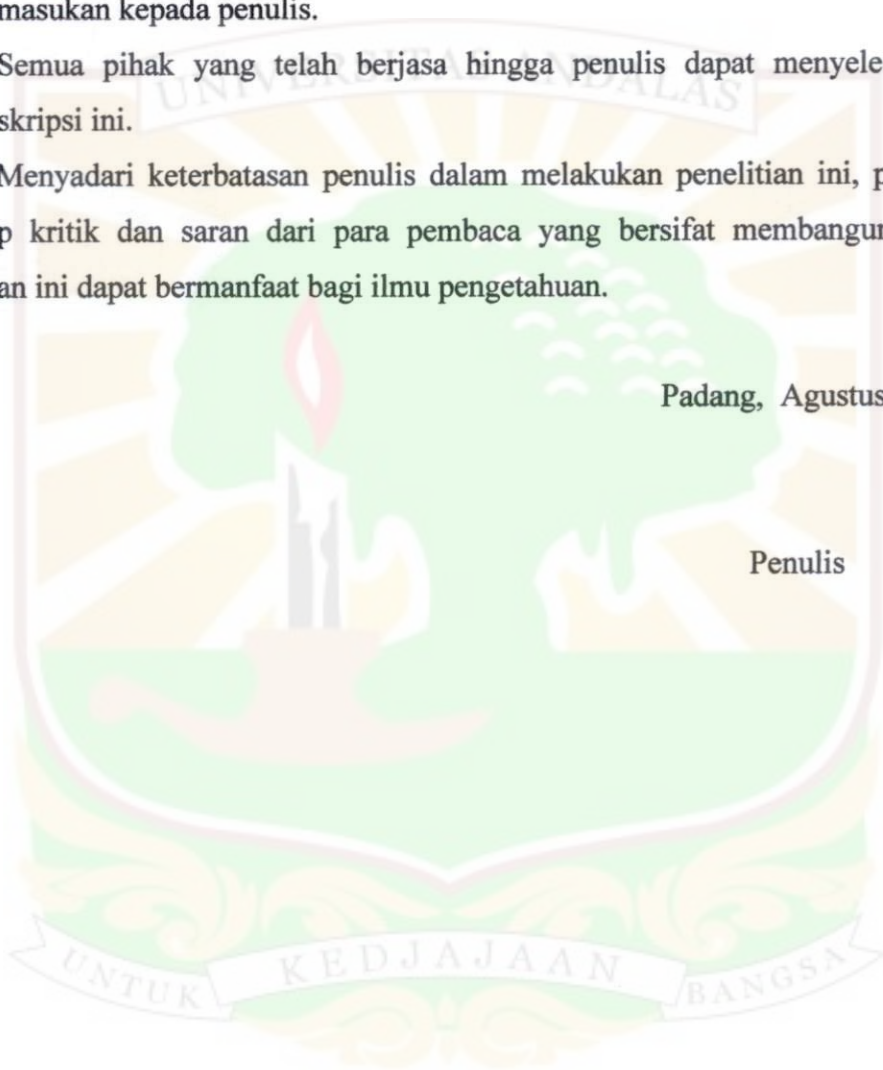


8. Ibu Mitralena selaku analis di laboratorium Kimia Organik Bahan Alam.
9. Ibu Nofrida, S.Sos yang telah membantu dalam pengukuran.
10. Keluarga besar KOBA 2008, kakak-kakak S2 KOBA serta teman-teman senasib dan sepenanggungan yang telah memberikan dorongan dan semangat kepada penulis.
11. Keluarga besar d'chaos '08 yang telah memberikan dorongan dan masukan kepada penulis.
12. Semua pihak yang telah berjasa hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Menyadari keterbatasan penulis dalam melakukan penelitian ini, penulis berharap kritik dan saran dari para pembaca yang bersifat membangun agar penelitian ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan.

Padang, Agustus 2012

Penulis





## ABSTRAK

### ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI ANTIOKSIDAN SENYAWA ANTOSIANIN DARI BUAH PUCUK MERAH (*Syzygium campanulatum* Korth.) SERTA APLIKASI SEBAGAI PEWARNA ALAMI

Oleh

Sukmaning Syahri (0810412036)

Pembimbing Dr. Djaswir Darwis, MS. DEA dan Dr. Adlis Santoni, MS

Senyawa antosianin dapat digunakan sebagai pewarna alami dan sebagai antioksidan. Buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth.) telah diidentifikasi mengandung senyawa antosianin, yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol yang diasamkan dengan HCl 0,1% (A) dan asam sitrat 3% (B), juga menggunakan pelarut akuades dengan asamnya HCl 0,1% (C) dan asam sitrat 3% (D). Kadar total antosianin ekstrak A, B, C, dan D adalah sebesar 439,69 mg/L, 462,51 mg/L, 347,86 mg/L, dan 446,93 mg/L. Ekstrak antosianin ini diidentifikasi dengan spektroskopi UV-Vis pada kisaran  $\lambda_{\text{maks}}$  250-700 nm, dan kemungkinan senyawa antosianin keempat ekstrak adalah sama yaitu sianidin-glikosida yang menyerap pada kisaran  $\lambda_{\text{uvmaks}}$  272,21 nm dan pada daerah visibel mempunyai kisaran  $\lambda_{\text{vismaks}}$  515,98 nm. Antosianin stabil pada pH 1-3, dimana variasi pH diketahui senyawa antosianin ini mengalami perubahan warna dan struktur pada suasana netral ataupun basa. Pengaruh pemanasan terhadap antosianin, menyebabkan terjadinya degradasi senyawa dan degradasi yang nyata terjadi pada temperatur 100°C, ekstrak A 22,29%, ekstrak B 36,73%, ekstrak C 28,28% dan ekstrak D 30,67%. Aktivitas antioksidan paling tinggi pada ekstrak D sebesar 93,49% dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 0,055% (b/v).

Kata kunci: antosianin, zat warna, antioksidan, *Syzygium campanulatum* Korth.



## ABSTRACT

### ISOLATION, IDENTIFICATION, AND TEST ANTIOXIDANT ANTHOCYANIN COMPOUNDS OF FRUIT RED BUD (*Syzygium campanulatum* Korth.) AS WELL AS THE APPLICATION OF NATURAL DYES

by

Sukmaning Syahri (0810412036)

Bachelor of Science Chemistry

Faculty of Mathematic and Natural Science University of Andalas

Advised by Dr. Djaswir Darwis, MS. DEA and Dr. Adlis Santoni, MS

Anthocyanin compounds can be used as natural colorants and as antioxidants. Fruit red bud (*Syzygium campanulatum* Korth.) Has been identified as containing anthocyanin compounds, which are extracted with a solvent methanol acidified with HCl 0.1% (A) and 3% citric acid (B), also using the solvent distilled water with HCl acid 0,1% (C) and citric acid 3% (D). Total anthocyanin content of extracts A, B, C, and D is equal to 439.69 mg / L, 462.51 mg / L, 347.86 mg / L and 446.93 mg / L. Anthocyanin extract was identified by UV-Vis spectroscopy with 250-700 nm range  $\lambda_{\text{max}}$ , and possible compounds to four anthocyanin extract is the same, namely cyanidin-glycoside which absorb in the range of  $\lambda_{\text{uvmax}}$  272.21 nm and has a range in the visible region  $\lambda_{\text{vismax}}$  515.98 nm. Anthocyanin stable at pH 1-3, where pH variation anthocyanin compounds are known to change color and structure of the neutral or alkaline. Heating influence of anthocyanin cause degradation compounds and with increasing temperature the percent degradation is also increasing and significant degradation occurs at a temperature of 100°C, extract A 22.29% , extract B 36.73%, 28.28% extract C and extract D 30.67 %. Highest antioxidant activity in extracts of D at 93.49% with IC<sub>50</sub> values of 0.055% (w / v).

Keywords: anthocyanins, pigments, antioxidants, *Syzygium campanulatum* Korth.



## DAFTAR ISI

<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>ix</b>
<b>BAB I : PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
<b>BAB II : TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Tinjauan Botani.....	4
2.2 Antosianin.....	5
2.2.1 Tinjauan Umum Antosianin.....	5
2.2.2 Biosintesis Antosianin.....	7
2.2.3 Sifat-sifat Antosianin.....	9
2.2.4 Antioksidan dari Antosianin.....	11
2.2.5 Karakteristik Spektrum Antosianin Pada Spektroskopi UV-Vis.....	12
2.3 Spektrofotometri UV-Vis.....	13
2.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	14
<b>BAB III : METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
3.2 Alat dan Bahan.....	17
3.2.1 Alat.....	17
3.2.2 Bahan.....	17



<b>3.3 Pengambilan dan Persiapan Sampel.....</b>	<b>17</b>
<b>3.4 Pembuatan Reagen.....</b>	<b>18</b>
3.4.1 Pembuatan Reagen Uji Fitokimia.....	18
3.4.2 Pembuatan Larutan.....	18
<b>3.5 Uji Profil Fitokimia.....</b>	<b>19</b>
<b>3.6 Ekstraksi Antosianin.....</b>	<b>21</b>
<b>3.7 Analisa Antosianin.....</b>	<b>21</b>
3.7.1 Analisa Antosianin dengan spektrofotometer UV-Vis	21
3.7.2 Variasi Konsentrasi.....	22
3.7.3 Variasi pH.....	22
3.7.4 Variasi Suhu.....	22
<b>3.8 Penentuan Kadar Total Antosianin.....</b>	<b>22</b>
<b>3.9 Uji Antioksidan dengan metode DPPH.....</b>	<b>23</b>
<b>3.10 Aplikasi Antosianin.....</b>	<b>23</b>
<b>BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
<b>4.1 Uji Profil fitokimia.....</b>	<b>25</b>
<b>4.2 Ekstraksi Antosianin.....</b>	<b>25</b>
<b>4.3 Analisa Antosianin dengan Spektrofotometer UV-Vis</b>	<b>26</b>
<b>4.4 Analisa Terhadap Perlakuan Konsentrasi.....</b>	<b>28</b>
<b>4.5 Analisa Terhadap Perlakuan pH.....</b>	<b>29</b>
<b>4.6 Analisa Terhadap perlakuan Suhu.....</b>	<b>30</b>
<b>4.7 Penentuan Kadar Total Antosianin.....</b>	<b>32</b>
<b>4.8 Uji Antioksidan Antosianin.....</b>	<b>33</b>
<b>4.9 Aplikasi Antosianin.....</b>	<b>35</b>
<b>BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>36</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>36</b>
<b>DAFTAR KEPUSTAKAAN.....</b>	<b>37</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>40</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b> Struktur alami yang terjadi pada antosianidin dengan gugus substitusi hidroksil dan metoksil.....	6
<b>Tabel 2.</b> Hasil uji pendahuluan kandungan kimia <i>Syzygium campanulatum</i> Korth.....	25
<b>Tabel 3.</b> Berat ekstrak antosianin buah pucuk merah dengan 4 sistem pelarut.....	26
<b>Tabel 4.</b> Nilai persen degradasi warna dari antosianin tiap-tiap ekstrak.....	30
<b>Tabel 5.</b> Total antosianin buah pucuk merah dengan berbagai sistem pelarut.....	32
<b>Tabel 6.</b> Nilai Daya Inhibisi Terhadap Radikal Bebas Tiap – Tiap Ekstrak Antosianin Buah Pucuk Merah	33
<b>Tabel 7.</b> Nilai Daya Inhibisi Berbagai Konsentrasi Ekstrak D Dan Vitamin C.....	34



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Tanaman Pucuk Merah ( <i>Syzygium campanulatum</i> Korth.)	4
<b>Gambar 2.</b> Struktur dasar antosianidin.....	6
<b>Gambar 3.</b> Biosintesis antosianin.....	8
<b>Gambar 4.</b> Degradasi sianidin-3-O-glukosida.....	9
<b>Gambar 5.</b> Perubahan struktur antosianin di dalam larutan tergantung pada pH larutan.....	10
<b>Gambar 6.</b> Struktur dari antosianin dalam buah <i>black mulberry</i> ( <i>Morus nigra</i> L).....	12
<b>Gambar 7.</b> Reaksi radikal bebas.....	16
<b>Gambar 8.</b> Resonansi pada struktur DPPH.....	16
<b>Gambar 9.</b> Struktur sianidin-glikosida yang terdapat pada buah pucuk merah.....	27
<b>Gambar 10.</b> Spektrum khas senyawa antosianin pada ekstrak buah pucuk merah.....	27
<b>Gambar 11.</b> Spektrum dari tiga antosianin yang ditemukan dalam buah	28
<b>Gambar 12.</b> Spektrum UV-Vis variasi konsentrasi.....	28
<b>Gambar 13.</b> Spektrum senyawa antosianin pada buah pucuk merah berbagai tingkatan pH.....	29
<b>Gambar 14.</b> Spektrum pengaruh suhu pemanasan terhadap serapan antosianin dari buah ( <i>Syzygium campanulatum</i> Korth.)	31
<b>Gambar 15.</b> Kurva hubungan suhu pemanasan dengan persen degradasi senyawa antosianin tiap-tiap ekstrak.....	32
<b>Gambar 16.</b> Kurva Regresi antara konsentrasi dengan % inhibisi dari ekstrak D dan Vitamin C.....	34
<b>Gambar 17.</b> Perubahan warna tiap-tiap ekstrak antosianin pada minuman susu <i>dadih</i> dan makanan jelly.....	35

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b> Skema Keja Metoda Ekstraksi buah pucuk merah ( <i>Syzygium campanultanum</i> Kroth.) .....	40
<b>Lampiran 2.</b> Skema Kerja Uji Aktifitas Senyawa Aktif Terhadap Penangkapan Radikal Bebas.....	41
<b>Lampiran 3.</b> Gambar ekstak antosianin buah pucuk merah ( <i>Syzygium campanultanum</i> Kroth.).....	42
<b>Lampiran 4.</b> Gambar perubahan larutan ekstrak antosianin buah pucuk merah yang divariasikan konsentrasinya dalam buffer 1.....	43
<b>Lampiran 5.</b> Gambar larutan ekstrak antosianin buah pucuk merah dalam berbagai tingkatan pH tiap – tiap ekstrak.....	44
<b>Lampiran 6.</b> Gambar pada buffer 1 terhadap perubahan warna larutan ekstrak antosianin buah pucuk merah terhadap pengaruh suhu	45
<b>Lampiran 7.</b> Perhitungan persen degradasi zat warna karena pengaruh suhu pemanasan ekstrak B antosianin buah pucuk merah.....	46
<b>Lampiran 8.</b> Perhitungan kadar total antosianin dengan metoda <i>pH diferensial</i> .....	47
<b>Lampiran 9.</b> Perhitungan persen inhibisi dan menentukan nilai IC <sub>50</sub> dari uji antioksidan.....	49
<b>Lampiran 10.</b> Surat Keterangan Hasil Identifikasi Tanaman Pucuk merah ( <i>Syzygium campanulatum</i> Korth.) di Herbarium Unand ( ANDA)	50



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Warna merupakan daya tarik terbesar untuk menikmati makanan dan minuman setelah aroma. Pewarna sintetis dalam pangan dapat meningkatkan ketertarikan konsumen terhadap suatu produk. Pewarna sintetis merupakan bahan pewarna yang tidak terdapat di alam dan disintesis secara kimia, contohnya *tartrazine*, *sunset yellow*, *brilliant blue*, *allura red*, *ponceau*, dan *quinoline yellow*.<sup>1</sup> Pewarna sintetis dalam tubuh sulit untuk dicerna sehingga dalam jangka waktu tertentu akan menimbulkan efek negatif bagi tubuh, seperti kerusakan sistem saraf, pernafasan, pencernaan dan menimbulkan kanker.

Permasalahan tentang penggunaan pewarna sintetis terhadap makanan dan minuman yang diragukan keamanannya perlu menjadi perhatian khusus dalam sistem pangan di Indonesia. Walaupun penggunaan pewarna sintetis di Indonesia telah diatur dalam SK Menteri Kesehatan RI tanggal 22 Oktober 1973 No.11332/A/SK/73. Namun, peraturan tersebut belum terlalu diperhatikan oleh masyarakat. Karena pengaturan di Indonesia masih terbatas, maka cara penggunaan zat pewarna biasanya mengikuti aturan dari FDA (*Food Drug Administration*) Amerika Serikat.<sup>2</sup>

Pada dasarnya pewarna sintetis mempunyai sifat toksik terhadap kesehatan, maka perlu mencari sumber alternatif pengganti pewarna sintetis yang berasal dari sumber pewarna alami. Pewarna alami yang berasal dari tumbuhan, contohnya klorofil, flavonoid, tannin, karotenoid, karamel, dan antosianin.<sup>3</sup>

Salah satu pewarna alami yang menjadi perhatian saat ini adalah antosianin. Antosianin telah banyak digunakan sebagai pewarna khususnya minuman. Menurut JEFCA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) menyatakan bahwa ekstrak yang mengandung antosianin mempunyai efek toksisitas yang rendah, dapat mengurangi resiko penyakit jantung koroner, resiko stroke, aktivitas antikarsinogen, efek anti-inflammatory, memperbaiki ketajaman mata dan memperbaiki perilaku kognitif.<sup>4</sup> Selain itu, antosianin dapat memberikan

manfaat bagi kesehatan manusia, antosianin ini diketahui dapat diabsorpsi dalam bentuk molekul utuh dalam lambung.<sup>5</sup>

Antosianin sendiri banyak terdapat dalam buah, bunga, dan daun yang memberikan warna merah sampai biru. Salah satu tumbuhan yang diduga mengandung antosianin adalah buah dari tanaman pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth). Tanaman pucuk merah berkembang di Indonesia sebagai tanaman hias, tanaman ini satu famili dengan tanaman jambu-jambuan yaitu tergolong famili Myrtaceae. Sebelumnya telah dilakukan penelitian terhadap buah duwet (*Syzygium cumini*) yang merupakan tanaman satu famili dengan pucuk merah tersebut, oleh Beatrice B.L tahun 2008. Dari hasil penelitian terdapatnya antosianin berupa petunidin-3-O-rhamnosa dan sianidin-3-O-soporosa. Jenis antosianin yang lebih banyak adalah petunidin-3-O-rhamnosa yang diekstrak dengan menggunakan etanol.<sup>6</sup>

Kandungan antosianin yang diduga terdapat dalam buah berwarna merah kehitaman dari tanaman pucuk merah berpotensi sebagai antioksidan alami dan sumber pewarna alami yang bermanfaat bagi kesehatan. Tanaman pucuk merah ini dapat diaplikasikan kedalam pewarna alami untuk sistem pangan khususnya minuman. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan ekstraksi senyawa antosianin yang terdapat dalam buah tanaman pucuk merah, menguji stabilitas senyawa antosianin terhadap pH dan suhu, uji antioksidan, dan aplikasinya terhadap makanan dan minuman. Pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi dengan pelarut yang bersifat polar yaitu air dan metanol dengan kondisi pengasaman dengan HCl dan asam sitrat.

## 1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Berapa kadar total antosianin dari buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth) dengan berbagai kondisi pelarut metanol dan akuades yang diasamkan dengan HCl dan asam sitrat ?



2. Antosianin jenis apa dari buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth) dari berbagai kondisi pelarut metanol dan akuades yang diasamkan dengan HCl dan asam sitrat ?
3. Bagaimana stabilitas antosianin dari buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth) dari setiap kondisi pengekstrakan terhadap pH dan suhu ?
4. Berapa kemampuan sebagai antioksidan dari antosianin buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth) setiap ekstrak ?
5. Apakah antosianin dari buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth) dapat diaplikasikan sebagai zat warna pada minuman dan makanan ?

### 1.3 Tujuan

Berdasarkan perumusan masalah di atas maka penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengidentifikasi antosianin dari buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth).
2. Mengetahui kadar total antosianin dari setiap ekstrak.
3. Mengetahui kondisi optimum stabilitas antosianin terhadap pengaruh pH dan suhu.
4. Mengetahui persen inhibisi dan  $IC_{50}$  sebagai antioksidan antosianin dari setiap ekstrak.
5. Mengaplikasikan antosianin sebagai pewarna alami terhadap beberapa minuman.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat, diantaranya :

1. Memberikan informasi tentang adanya pigmen antosianin dalam buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth).
2. Dapat mengaplikasikan pigmen antosianin buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth) sebagai pewarna alami terhadap minuman dan makanan.
3. Memberikan informasi tentang pigmen antosianin dari buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth) sebagai zat antioksidan.

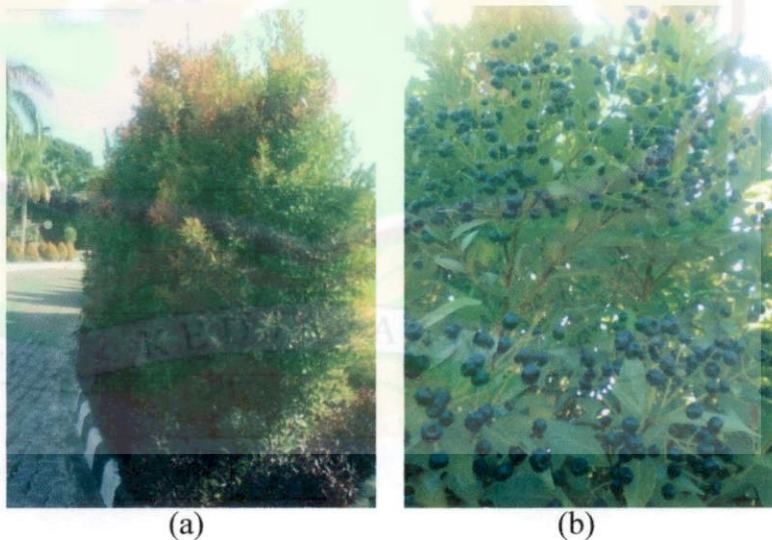
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Botani<sup>7</sup>

*Syzygium campanulatum* yang dikenal dengan nama pucuk merah merupakan salah satu spesies dari famili Myrtaceae. Yang sebelumnya telah diidentifikasi di Herbarium Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, seperti yang terlampir pada lampiran 10. Klasifikasi tumbuhan ini sebagai berikut ;

Domain	: Eukaryota
Kingdom	: Plantae
Filum	: Tracheophyta
Class	: Spermatopsida
Order	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: <i>Syzygium</i>
Spesies	: <i>campanulatum</i> - Korth.
Nama botani	: <i>Syzygium campanulatum</i> Korth.



**Gambar 1 :** Tanaman pucuk merah (a), dan buah pucuk merah (b).

Tanaman pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth) merupakan tanaman hutan hujan yang tumbuh lebat dan biasanya sebagai tanaman pagar, untuk tujuan sebagai tanaman pelindung di tepi jalan dan juga berfungsi sebagai penyaring udara, serta dapat juga berfungsi tanaman hias. Tanaman pucuk merah berdaun



banyak dan tumbuh dengan baik ketika terkena matahari cukup. Pertumbuhan tanaman ini dapat mencapai tinggi 3 m dalam kurun waktu selama 4 tahun. Tanaman pucuk merah ini juga dapat tumbuh dibawah naungan tanaman lain, namun pertumbuhannya tidak begitu cepat daripada tumbuh dengan kondisi matahari yang cukup.

Tanaman pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth) ini sangat sensitif terhadap transplantasi dan cukup tinggi tingkat kematiannya, sehingga daunnya akan cenderung rontok untuk memulihkan keadaannya dalam beberapa waktu. Selain itu, tanaman ini cukup resistan terhadap hama dan penyakit. Baru-baru ini, kultivar dari tanaman spesies ini telah diperkenalkan dan dipopulerkan.

Pertumbuhan pohonnya berukuran menengah dan dapat tumbuh hingga 20 m atau lebih. Daunnya berbentuk ellips, lembut dan berwarna hijau mengkilat ukuran panjang daun biasanya antara 3-8 cm, dan tidak berbau aromatik. Daun muda akan berwarna agak orange-merah dan lebih jelas ketika tanaman ini tumbuh dalam keadaan cukup matahari, serta batang kulitnya bersisik dan berwarna coklat.

Bunga dari tanaman ini berukuran kecil, berwarna putih atau krem dan tidak mencolok. Sedangkan buahnya berukuran kecil dan berwarna merah gelap seperti *blackberries*. Tanaman pucuk merah ini tersebar luas didaerah Penang, Johor, Singapura, Burma, Siam, Sumatra, Pulau Anamba, Borneo, dan Philipina.

## **2.2 Antosianin**

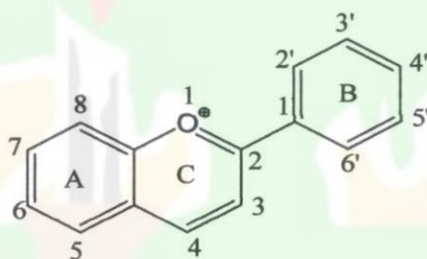
### **2.2.1 Tinjauan Umum Antosianin**

Antosianin merupakan pigmen yang mudah larut dalam air, yang menghasilkan warna merah-biru dan tersebarluas dalam buah, bunga, dan daun. Dari beberapa penelitian telah diperoleh zat warna antosianin pada buah blueberry, strawberry, anggur, buah naga, radish, mangga, leci, ubi jalar, dan batang sorgum. Selain itu, antosianin juga terdapat pada padi-padian, kacang-kacangan, dan sereal.<sup>8</sup>

Antosianin merupakan suatu senyawa turunan flavonoid glikosida, dimana terdiri dari gugus gula (glikon), gugus bukan gula yaitu antosianidin (aglikon), dan ada beberapa antosianin mengandung gugus asil. Secara alami antosianin terjadi karena glikosida dan asilglikosida pada antosianidin. Substituen gula pada antosianin biasanya adalah heksosa ( galaktosa dan glukosa ), pentosa (arabinosa)

dan diglikosida (rutosida). Gugus asil pada antosianin misalnya asam kumarat, asam ferulik, asam asetat, asam malonat, asam kafeit, asam sinapit, asam propionat, dan asam suksinat. Struktur dasar dari antosianin adalah C6-C3-C6, dan untuk membentuk antosianin disebabkan karena perbedaan struktur kimia pada berbagai tingkatan pH, antosianin ( *anthos* = bunga, *kyanos* = biru ) berubah warna dari merah dalam asam ke biru dalam basa.<sup>9</sup>

Jenis antosianidin tergantung pada perbedaan substituen hidroksil dan metoksil pada struktur dasar flavilium (2-phenilbenzopyrillium). Akibat kekurangan elektron (kation), maka inti flavilium menjadi sangat reaktif dan hanya stabil pada kondisi asam.<sup>10</sup> Jumlah gugus hidroksil atau metoksil pada struktur antosianidin akan mempengaruhi warna antosianin. Jumlah gugus hidroksil yang dominan menyebabkan warna cenderung biru dan relatif tidak stabil. Sedangkan jumlah gugus metoksil yang dominan akan menyebabkan warna cenderung merah dan relatif stabil. Struktur dasar dari antosianidin dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2 :** Struktur dasar antosianidin

Dengan adanya perbedaan jumlah dan posisi gugus hidroksil dan metoksil terdapat 17 bentuk antosianidin, akan tetapi hanya ada enam yang memegang peranan penting dalam sistem bahan pangan, yaitu sianidin, malvidin, petunidin, pelargonidin, delphinidin dan peonidin. Keterangan gugus pengganti pada antosianidin diberikan pada Tabel 1.<sup>11</sup>

**Tabel 1 :** Struktur alami yang terjadi pada antosianidin dengan gugus substitusi hidroksil dan metoksil.

No	Antosianidin	Substitusi (R)							Warna
		3	5	6	7	3'	4'	5'	
1	Apigenidin	H	OH	H	OH	H	OH	H	Orange
2	Aurantidin	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	Orange
3	Cyanidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Orange-Merah

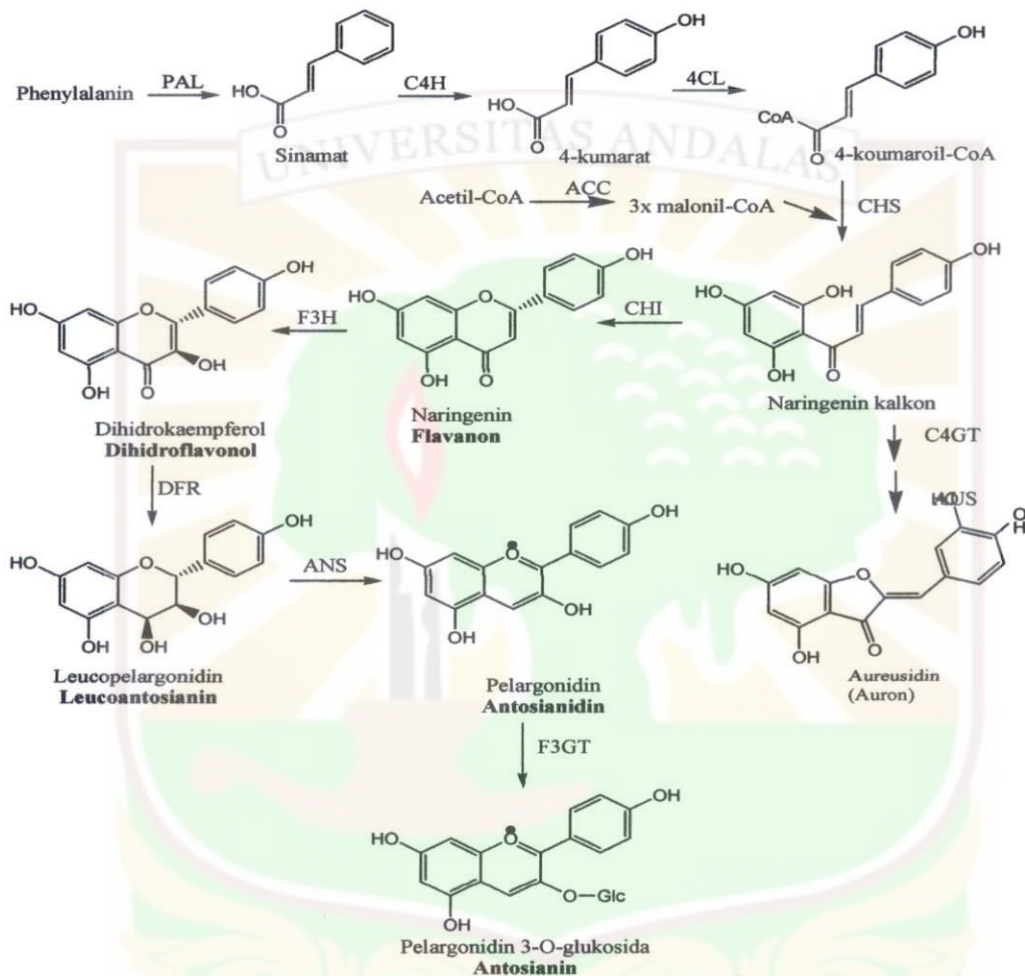


4	Delphinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Ungu-Biru
5	6-Hydroxycyanidin	OH	OH	OH	OH	OH	OH	H	Merah
6	Luteolinidin	H	OH	H	OH	OH	OH	H	Orange
7	Pelargonidin	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Orange
8	Triacetidin	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	Merah
9	Capensinidin	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Biru-Merah
10	Europinidin	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	Biru-Merah
11	Hirsutidin	OH	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Biru-Merah
12	Malvidin	OH	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Ungu
13	5-metilcyanidin	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OH	OH	H	Orange-Merah
14	Peonidin	OH	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Orange-Merah
15	Petunidin	OH	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	Ungu
16	Pulchellidin	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OH	OH	OH	Biru-Merah
17	Rosinidin	OH	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Merah

### 2.2.2 Biosintesis Antosianin

Jalur biosintesis antosianin digambarkan pada genetika dan tingkat enzimatik, dengan urutan gen yang tersedia untuk semua langkah kunci biosintesis antosianin utama dan juga untuk beberapa modifikasi aktifitas sekunder. Pigmen dasar adalah antosianidin, dengan glikosilat menjadi bentuk antosianin. Tahap pertama biosintesis antosianin adalah adanya prekursor flavonoid penting yaitu phenilalanin dan malonil-CoA, turunan dari sikimat/arogenat dan siklus TCA. Flavonoid pertama adalah kalkon (C<sub>15</sub>), yang dibentuk oleh kalkon sintase (CHS), yang merupakan suatu anggota enzim poliketida sintase, CHS membentuk suatu unit ester (Asam Hidroksinamat-CoA), biasanya adalah p-koumaroil-CoA, dan membawa keluar 3 molekul malonil-CoA. Kalkon adalah warna pertama dari biosintesis ini, yang memberikan warna kuning, dan juga dapat dikonversi menjadi kuning cerah dari auron oleh enzim aureusidin sintase(AUS). Selanjutnya, selain pembentukan auron terjadi juga pembentukan dari 3 molekul malonil-CoA dan p-koumaril-CoA menjadi naringenin kalkon, yang selanjutnya

dikonversi menjadi flavanone dan naringenin. Tahap kedua, reduksi formasi dihidroflavonol menjadi flaven-3,4-diol (leukoantosianin) yang kemudian dikonversi menjadi antosianin setelah ditambahkan molekul glukosa oleh enzim UDP glukase, yaitu flavonoid glukosiltransferase.<sup>12</sup> Biosintesis antosianin dapat dilihat pada gambar 3:



**Gambar 3.** Biosintesis antosianin<sup>12</sup>

Keterangan :

PAL : Fenilalanin amonia-liase	F3H : flavanon 3 $\beta$ -hidroksilase
C4H : sinamat 4-hidroksilase	AUS : aureusidin sintase
4CL : 4-kumarat KoA ligase	DFR : dihidroflavonol4-reduktase
ACC : asetil-KoA karboksilase (sitosolik)	ANS : antosianidin sintase
CHS : kalkan sintase	F3GT : flavonol 3-O-glukosiltransferase
	CHI : kalkan isomerase

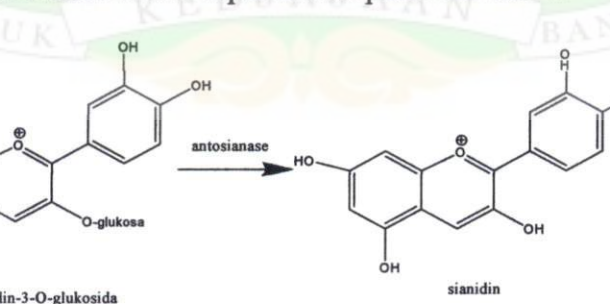
Dengan berbagai jalur biosintesis tersebut dengan peranan enzim, maka terbentuklah antosianidin-antosianidin yang berupa golongan senyawa antosianin



### Antosianin

antosianin di dalam jaringan tanaman dipengaruhi oleh jumlah pigmen, letak dan jumlah gugus hidroksil. Konsentrasi yang tinggi di dalam jaringan akan menyebabkan warna merah, konsentrasi sedang akan menyebabkan warna ungu, dan konsentrasi rendah akan menyebabkan warna biru. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi kestabilan antosianin. Faktor-faktor yang mempengaruhi kestabilan antosianin diantaranya pengaruh enzim, pH, cahaya, dan suhu.

, kehadiran enzim antosianase atau polimerase antosianase dapat meningkatkan stabilitas antosianin karena bersifat mereduksi antosianin oleh glukosidase (antosianase) dan menghasilkan produk reaksi yang terjadi adalah sianidin-3-O-glukosida. Reaksi degradasi sianidin menjadi sianidin dan glukosa. Reaksi degradasi sianidin oleh enzim antosianase dapat dilihat pada Gambar 4.<sup>2</sup>

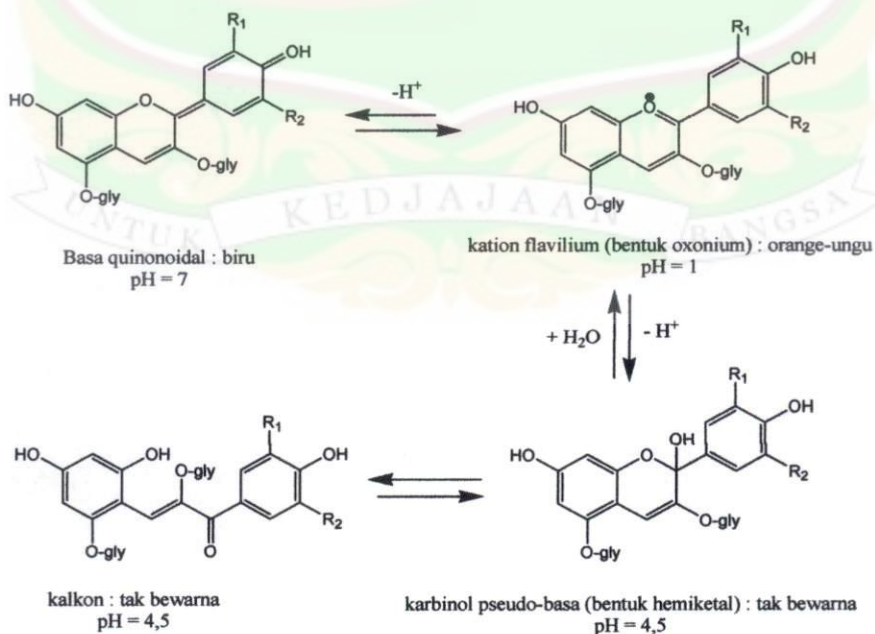


**Gambar 4 : Degradasi sianidin-3-O-glukosida**

Enzim yang diisolasi dari *Aspergillus niger* menyebabkan degradasi warna pada pigmen antosianin dari *blackberry*, sianidin-3 monoglukosida. Enzim antosianase mengkatalisa hidrolisis dari antosianin menjadi aglikon dan pecahan gula.

## 2. pH

Faktor pH mempengaruhi kestabilan warna antosianin. Antosianin lebih stabil dalam larutan asam dibanding dalam larutan alkali atau netral. Pada larutan asam, antosianin bersifat stabil, pada larutan asam kuat antosianin sangat stabil. Dalam suasana asam, antosianin berwarna merah-oranye sedangkan dalam suasana basa antosianin berwarna biru-ungu atau kadang-kadang kuning. Perubahan warna tersebut terjadi karena perubahan struktur molekul antosianin akibat pengaruh pH. Penurunan pH secara nyata akan memperlambat laju kerusakan antosianin yang berasal dari raspberry. Pada kisaran pH 1-3, pigmen antosianin berada dalam bentuk oxonium (I) yang berwarna merah dan merupakan bentuk yang paling stabil. Bentuk tersebut dapat mengalami hidrolisis pada pH yang lebih tinggi membentuk pseudobasa, yang mulai kehilangan warna. Pseudobasa yang terbentuk ini dapat mengalami kesetimbangan tautomerik. Kesetimbangan antara bentuk keto dan bentuk enol menghasilkan alfa diketon yang menghasilkan warna biru. Gambar perubahan struktur molekul antosianin karena pengaruh pH diberikan pada Gambar 5.<sup>16</sup>



**Gambar 5:** Perubahan struktur antosianin di dalam larutan tergantung pada pH larutan.



### 3. Cahaya

Cahaya mempunyai dua pengaruh yang saling berlawanan terhadap antosianin yaitu berperan dalam pembentukan antosianin dalam proses biosintesisnya tetapi juga mempercepat laju degradasi warna antosianin. Suatu asilasi, metilasi bentuk diglikosida menjadikan antosianin lebih stabil terhadap cahaya, sedangkan diglikosida yang tidak terasilasi lebih tidak stabil demikian juga dengan monoglikosida.<sup>2</sup>

### 4. Suhu

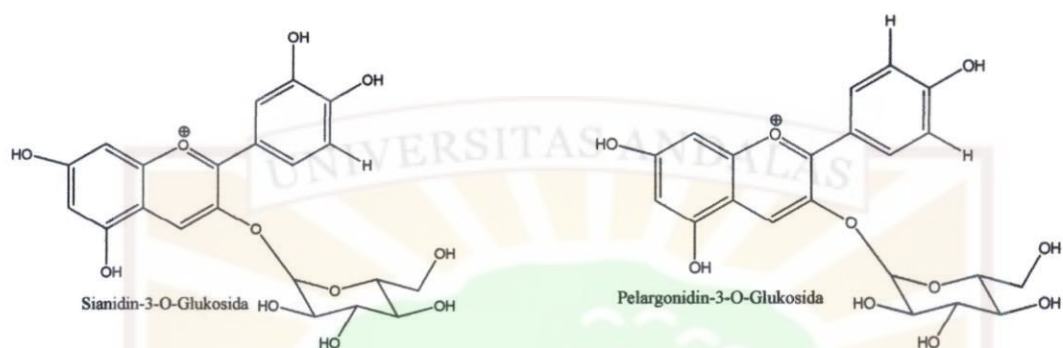
Suhu mempunyai pengaruh nyata terhadap kestabilan antosianin dan laju degradasi antosianin. Semakin meningkatnya suhu pemanasan baik itu selama proses pemanasan ataupun penyimpanan dapat menyebabkan hilangnya glikosil pada antosianin, kemungkinan terjadinya hidrolisis ikatan glikosidik ataupun dapat menstimulasi aglikon-aglikon hasil hidrolisis yang mudah mengalami transformasi menjadi senyawa kalkon.<sup>2</sup>

#### 2.2.4 Antioksidan dari Antosianin

Secara umum, antosianin diyakini dapat meningkatkan respon antioksidan tanaman untuk pertahanan hidup pada stres biotik atau abiotik. Selain itu, antosianin juga memainkan peranan penting dalam reproduksi tanaman yaitu menarik polinator yang dapat membantu dalam penyerbukan bunga. Antosianin dianggap sebagai komponen penting pada nutrisi manusia sebagai antioksidan yang lebih tinggi daripada vitamin C dan E. Senyawa ini dapat menangkap radikal bebas dengan sumbangan atom hidrogen fenolik. Antosianin dapat ditransportasikan dalam tubuh manusia dan menunjukkan aktivitas sebagai antitumor, antikanker, antivirus, anti peradangan, menghambat agregasi trombosit, menurunkan permeabilitas dinding kapiler darah dan meningkatkan kekebalan tubuh.<sup>13</sup>

Turkan Kutlu, dkk (2009) melaporkan sifat antioksidan dari antosianin yang terkandung dalam ekstrak *mulberry*, dimana aktivitas antioksidan pada spesies *mulberry* secara umum diperankan oleh senyawa fenolik khususnya antosianin. Mayoritas antosianin yang terdapat dalam *mulberry* adalah sianidin-3-O-glukosida dan sianidin-3-O-rutinosida, yang dilaporkan mempunyai efek

menghambat terhadap migrasi dan invasi pada sel kanker paru-paru, sianidin-3-O-sophorosida, pelargonidin-3-O-glukosida, dan pelargonidin-3-O-rutinosida.<sup>14</sup> Beberapa struktur antosianin yang terdapat dalam ekstrak buah mulberry ditunjukkan dalam gambar 6 dibawah ini.



**Gambar 6:** Struktur dari antosianin dalam buah *black mullberry* (*Morus nigra* L.).

Aktivitas antioksidan tergantung kepada struktur dasar antosianin, dan tidak semua jenis antosianin mempunyai kesamaan aktivitas terhadap anti radikal. Suatu orientasi cincin antosianin akan menentukan mudahnya atom hidrogen dari suatu gugus hidroksil untuk didonorkan kesuatu radikal bebas serta kapasitas antosianin juga didukung oleh suatu elektron yang tidak berpasangan. Kekuatan antioksidan antosianin berbeda, misalnya delphinidin lebih aktif terhadap anion superoksida (diikuti oleh sianidin dan pelargonidin) dan pelargonidin lebih banyak efisiensinya terhadap radikal hidroksil. Umumnya, aktivitas antioksidan berhubungan dengan jumlah hidroksil bebas disekitar cincin pirone, semakin banyak jumlah hidroksil semakin besar juga aktifitas antioksidan.<sup>15</sup>

### 2.2.5 Karakteristik Spektrum Antosianin Pada Spektroskopi UV-Vis

Antosianin memiliki karakteristik serapan jika diidentifikasi dengan spektroskopi UV-Vis, yaitu pada daerah UV (260-280 nm) sebagai daerah serapan gugus gula dan pada daerah Visibel (490-550 nm) sebagai daerah serapan gugus antosianidin yang menunjukkan semua jenis antosianin. Perbedaan dari suatu aglikon akan memberikan perbedaan serapan  $\lambda_{maks}$  yang berbeda-beda pula. Range sekitar 520 nm adalah untuk pelargonidin dan 546 untuk delphinidin. Suatu monoglikosida akan menghambat serapan dari antosianin sekitar 10 -15 nm lebih



pendek. Bentuk suatu spektrum akan memberikan informasi jumlah dan posisi substitusi glikosidik dan jumlah asilasi. Perbandingan antara absorbansi pada 310-360 nm dengan  $\lambda_{maks}$  memberikan suatu informasi adanya substitusi gugus asil pada suatu antosianin. Pelarut yang digunakan untuk penentuan spektral akan mempengaruhi posisi serapan  $\lambda_{maks}$  nya, sehingga harus sesuai untuk membandingkan data yang tepat dalam mencari informasi tentang  $\lambda_{maks}$  dari suatu antosianin.<sup>16</sup>

### 2.3 Spektrofotometri UV-Vis<sup>17</sup>

Spektrofotometri adalah ilmu yang mempelajari tentang penggunaan spektrofotometer. Spektrofotometer adalah alat yang terdiri dari spektrofotometer dan fotometer. Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relative jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan, atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu, dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi.

Spektrofotometri UV-Vis adalah anggota teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber REM (radiasi elektromagnetik) ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Analisis kualitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis hanya dipakai untuk data sekunder atau data pendukung. Pada analisis kualitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis yang dapat ditentukan ada 2 yaitu :

- a. Pemeriksaan kemurnian spektrum UV-Vis.
- b. Penentuan panjang gelombang maksimum.

Pada penentuan panjang gelombang maksimum didasarkan atas perhitungan pergeseran panjang gelombang maksimum karena adanya penambahan gugus pada sistem kromofor induk.

Hukum Lambert-Beer menyatakan hubungan antara serapan dan panjang jalan melewati medium yang menyerap, dan hubungan antara konsentrasi spesies penyerap dan tingkat absorpsi. Hukum ini menyatakan absorban zat terlarut adalah proporsional dengan konsentrasi sebagai,  $A = \epsilon \cdot b \cdot C$

A = absorban

$\epsilon$  = absorptivitas molar

C = konsentrasi solut (  $\text{mol/L}^{-1}$  )

b = tebal kuvet

Panjang gelombang cahaya UV atau tampak tergantung pada mudahnya eksitasi elektron. Molekul-molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk bertransisi, akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek. Molekul yang memerlukan energi yang lebih kecil akan menyerap panjang gelombang yang lebih besar. Sehingga senyawa yang menyerap cahaya dalam daerah tampak (senyawa berwarna) memiliki elektron yang lebih mudah bertransisi daripada senyawa yang menyerap pada panjang gelombang UV yang lebih pendek.

#### 2.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Antioksidan adalah senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan pembentukan ataupun memadukan efek spesies oksigen reaktif. Penggunaan senyawa antioksidan juga anti radikal saat ini semakin meluas seiring dengan semakin besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, arteriosclerosis, kanker, serta gejala penuaan. Masalah-masalah ini berkaitan dengan kemampuan antioksidan untuk bekerja sebagai inhibitor (penghambat) reaksi oksidasi oleh radikal bebas reaktif yang menjadi salah satu pencetus penyakit-penyakit di atas.

Tubuh manusia menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi jumlahnya sering kali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh. Sebagai contoh, tubuh manusia dapat menghasilkan *Glutathione*, salah satu antioksidan yang sangat kuat, hanya tubuh memerlukan asupan vitamin C sebesar 1.000 mg untuk memicu tubuh menghasilkan *glutathione* ini. Kekurangan antioksidan dalam tubuh membutuhkan asupan dari luar. Bila mulai menerapkan



pola hidup sebagai vegetarian akan sangat membantu dalam mengurangi resiko keracunan akibat radikal bebas. Keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas menjadi kunci utama pencegahan stress oksidatif dan penyakit-penyakit kronis yang dihasilkan.<sup>18</sup>

Berdasarkan mekanismenya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu :

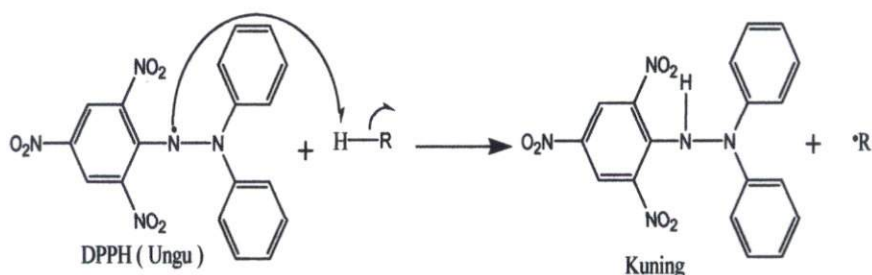
a. Antioksidan primer

Antioksidan primer mengikuti mekanisme pemutusan rantai reaksi radikal dengan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada suatu lipid yang radikal, produk yang dihasilkan lebih stabil dari produk inisial (Vaya dan Aviram, 2000). Contoh antioksidan ini adalah flavonoid, tokoferol, senyawa thiol, yang dapat memutus rantai reaksi propagasi dengan menyumbang elektron pada peroksidiradikal dalam asam lemak.

b. Antioksidan sekunder

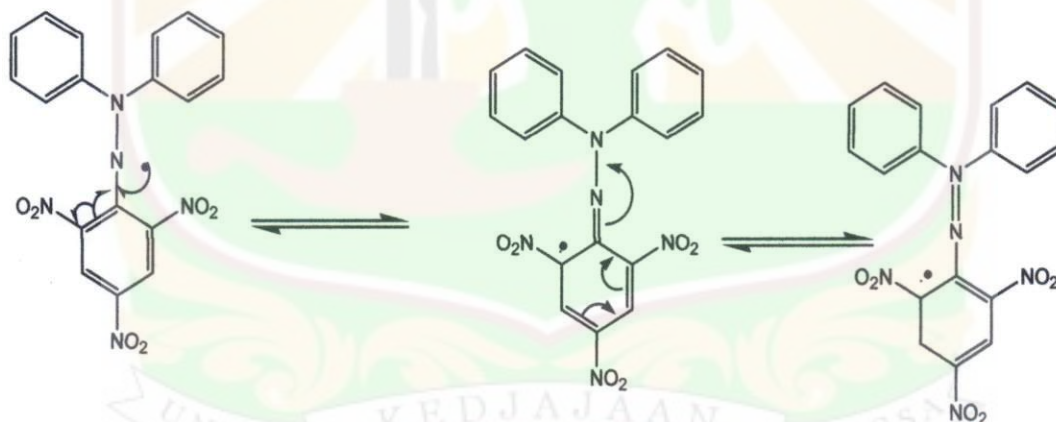
Antioksidan ini dapat menghilangkan penginisiasi oksigen maupun nitrogen radikal atau bereaksi dengan komponen atau enzim yang menginisiasi reaksi radikal antara lain dengan menghambat enzim pengoksidasi dan menginisiasi enzim pereduksi atau mereduksi oksigen tanpa membentuk spesies radikal yang reaktif. Contoh antioksidan sekunder: sulfit, vitamin C, betakaroten, asam urat, bilirubin, dan albumin.<sup>19</sup>

Radikal bebas yang umum digunakan sebagai model dalam penelitian antioksidan atau peredam radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti etanol, dan metanol, berwarna ungu gelap dan mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada panjang gelombang 515 nm. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer dan diplotkan terhadap konsentrasi). Metode DPPH dipilih karena merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk skrening aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa. Selain itu, metode ini terbukti akurat, reliabel dan praktis.<sup>20</sup>



**Gambar 7.** Reaksi radikal bebas

Perubahan dari ungu menjadi kuning sebagai akibat absorptivitas molar radikal DPPH pada 515 nm berkurang dari 9660 menjadi 1640 ketika elektron tak berpasangan pada radikal DPPH berpasangan dengan atom hidrogen membentuk DPPH-H tereduksi. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer, dan dihubungkan terhadap konsentrasi. Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila elektron tak berpasangan pada radikal DPPH berpasangan dengan hidrogen zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi.<sup>19</sup>



**Gambar 8 :** Resonansi pada struktur DPPH



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Februari sampai dengan Juli 2012 bertempat di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam dan Laboratorium Instrumen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.

#### **3.2. Alat dan Bahan**

##### **3.2.1. Alat**

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, *Rotary Evaporator* merek Reidolph, *spektrofotometer UV-VIS Thermo Scientific series*, lampu UV 254 nm dan 365 nm, pH meter Metrohm 827 *pH Lab series*, neraca analitik, plat tetes, oven, kertas saring, aluminium foil, waterbath, plat KLT serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

##### **3.2.2. Bahan**

Bahan kimia yang digunakan berupa pelarut organik seperti metanol teknis yang didistilasi, etil asetat teknis yang didistilasi, akuades, dan bahan kimia lainnya seperti NaOH, KCl,  $\text{CH}_3\text{COOH}$  glasial,  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ , asam sitrat,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , HCl pekat, logam Mg,  $\text{FeCl}_3$ , anhidrida asetat,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat, klorofom, dan pereaksi Meyer, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), Vitamin C ( merek C ipi ) dan metanol p.a.

#### **3.3. Pengambilan dan Persiapan Sampel**

Sampel yang diperlukan untuk penelitian berupa buah pucuk merah segar matang yang diambil secara random, dan diperoleh dari daerah Limau Manis Kampus Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat. Bagian yang akan diteliti adalah daging buah segar yang dihaluskan dan ditimbang.

### 3.4 Pembuatan Reagen

#### 3.4.1 Pembuatan Reagen Uji Fitokimia

##### a. Larutan $\text{FeCl}_3$ 5%

Sebanyak 5 g  $\text{FeCl}_3$  dilarutkan dengan akuades sampai volume 100 mL.

##### b. Larutan $\text{HCl}$ 2N

Sebanyak 17 mL  $\text{HCl}$  pekat diencerkan dengan akuades sampai volume 100 mL.

##### c. Perekasi Meyer

Sebanyak 2,266 g  $\text{HgCl}_2$  dilarutkan dengan akuades hingga volume 100 ml dalam labu ukur (menjadi larutan I). Pada wadah lain, dilarutkan 50 g Kalium Iodida dengan akuades hingga volume 100 mL (menjadi larutan II). Kemudian 60 mL larutan I dicampurkan dengan 10 mL larutan II dan diencerkan dengan akuades dalam sampai volume 100 mL.

##### d. Larutan $\text{H}_2\text{SO}_4$ 2N

Sebanyak 5,6 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat diencerkan dengan akuades hingga volume larutan menjadi 100 mL.

#### 3.4.2 Pembuatan Larutan <sup>21</sup>

Larutan  $\text{HCl}$  0,2 M dibuat dengan melarutkan 4,17 mL  $\text{HCl}$  pekat dalam labu 250 mL dengan akuades. Larutan  $\text{KCl}$  0,2 M dibuat dengan melarutkan 3,7275 g  $\text{KCl}$  kedalam labu 250 mL dengan akuades. Larutan  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  0,2 M dibuat dengan melarutkan 3,85 g  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  dalam labu ukur 250 mL dengan akuades dan larutan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,2M dibuat dengan melarutkan 2,9 mL  $\text{CH}_3\text{COOH}$  glasial dalam labu ukur 250 mL dengan akuades. Larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1 M dibuat dengan melarutkan 3,4025 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dalam labu ukur 250 mL dengan akuades. Larutan  $\text{NaOH}$  0,1 M dibuat dengan melarutkan 1 g  $\text{NaOH}$  dalam labu ukur 250 mL dengan akuades.

##### a. Pembuatan Larutan pH 1

Larutan buffer pH 1 dibuat dengan mencampurkan 25 mL  $\text{KCl}$  dengan 67 mL  $\text{HCl}$  dan diencerkan dalam labu 100 mL, pH larutan ditetapkan 1 dengan penambahan sedikit demi sedikit  $\text{KCl}$  0,2 M atau  $\text{HCl}$  0,2 M sambil diukur dengan menggunakan pH meter hingga didapatkan pH 1.



#### **b. Pembuatan Buffer pH 3**

Larutan buffer pH 3 dibuat dengan mencampurkan 0,5 mL  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  0,2 M dan 25 mL  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,2 M, diencerkan dalam labu ukur 250 mL. pH larutan ditepatkan 3 dengan penambahan sedikit demi sedikit  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,2 M atau  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  0,2 M sambil diukur dengan menggunakan pH meter hingga didapatkan pH 3.

#### **c. Pembuatan Buffer pH 5**

Larutan buffer pH 5 dibuat dengan mencampurkan 3,7 mL  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,2 M dengan 8,8 mL  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  0,2 M dan diencerkan dalam labu 250 mL. pH larutan ditepatkan 5 dengan penambahan sedikit demi sedikit  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,2 M atau  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  0,2 M sambil diukur dengan menggunakan pH meter hingga didapatkan pH 5.

#### **d. Pembuatan Buffer pH 7**

Larutan buffer pH 7 dibuat dengan mencampurkan 50 mL  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1 M dan sejumlah  $\text{NaOH}$  0,1 M sambil diukur dengan menggunakan pH meter hingga didapatkan larutan pH 7.

#### **e. Pembuatan Buffer pH 9**

Larutan buffer pH 9 dibuat dengan mencampurkan 50 mL  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1 M dan sejumlah  $\text{NaOH}$  0,1 M sambil diukur dengan menggunakan pH meter hingga didapatkan larutan pH 9.

### **3.5 Uji Profil Fitokimia<sup>22</sup>**

Metode pemeriksaan kandungan flavonoid, triterpenoid, steroid, dan senyawa fenolik, yaitu :

Dua gram sampel segar dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dimaserasi dengan metanol yang telah dipanaskan (di atas penangas air) selama 15 menit. Kemudian disaring panas-panas ke dalam tabung reaksi lain dan biarkan seluruh metanol menguap hingga kering. Lalu ditambahkan kloroform dan air suling dengan perbandingan 1:1 masing-masingnya sebanyak 5 mL, kocok dengan baik, kemudian pindahkan ke dalam tabung reaksi, biarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan kloroform-air. Lapisan kloroform di bagian bawah

digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid. Sedangkan lapisan air digunakan untuk pemeriksaan senyawa flavonoid, fenolik dan saponin.

1. Pemeriksaan Flavonoid (Sianidin Tes)

Sebagian dari lapisan air diambil dan dipindahkan dengan menggunakan pipet ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan asam klorida pekat dan beberapa butir bubuk magnesium, terbentuknya warna orange sampai merah menunjukkan adanya flavonoid (kecuali untuk flavon).

2. Pemeriksaan Fenolik

Sebagian dari lapisan air diambil dan dipindahkan dengan pipet ke dalam tabung reaksi kecil, kemudian tambahkan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ , terbentuknya warna biru/ungu menandakan adanya kandungan senyawa fenolik.

3. Pemeriksaan Saponin

Dari lapisan air, kocok kuat-kuat dalam sebuah tabung reaksi, terbentuknya busa yang tidak hilang dengan penambahan beberapa tetes HCl pekat menunjukkan adanya saponin.

4. Pemeriksaan Triterpenoid dan Steroid (Lieberman Buchard)

Dari lapisan kloroform diambil sedikit dan dimasukkan ke dalam tiga lubang plat tetes, biarkan hingga kering. Ke dalam satu lubang plat tetes ditambahkan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat, ke dalam lubang plat tetes lainnya ditambahkan setetes anhidrida asetat dan setetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Terbentuknya warna hijau atau hijau biru menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuknya warna merah atau merah ungu menandakan adanya triterpenoid.

5. Pemeriksaan Alkaloid

Sampel sebanyak 2 – 4 gram dipotong kecil-kecil, kemudian dihaluskan dalam lumpang dengan penambahan sedikit pasir dan 10 mL kloroform-amoniak 0,05 N, kemudian diaduk/digerus perlahan. Larutan disaring dengan corong kecil, di dalamnya diletakkan kapas sebagai penyaring dan hasil saringan dimasukkan ke dalam sebuah tabung reaksi, kemudian tambahkan 10 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 N dan kocok secara perlahan. Biarkan sejenak sampai terbentuk pemisahan lapisan asam dan kloroform. Lapisan asam diambil dengan bantuan pipet dan dipindahkan ke dalam sebuah tabung reaksi. Kemudian tambahkan pereaksi



Meyer, reaksi positif ditandai dengan adanya endapan putih (+4), kabut putih tebal (+3), kabut putih tipis (+2), kabut putih sangat tipis (+1).

#### 6. Pemeriksaan Kumarin

Sampel sebanyak 2 – 5 gram dirajang halus dan diekstrak dengan pelarut metanol. Hasil ekstrak ditotolkan pada batas bawah plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler, dibiarkan kering pada udara terbuka. Kemudian dielusi dalam bejana yang berisi 10 mL eluen etil asetat 100%. Noda yang dihasilkan dimonitor di bawah lampu UV (365 nm). Hasil KLT kemudian disemprot dengan larutan NaOH 1% dalam etanol : air (1 : 1), dan selanjutnya dilihat di bawah lampu UV (365 nm). Adanya fluoresensi yang bertambah terang setelah disemprot dengan NaOH 1% menandakan adanya senyawa kumarin.

### 3.5 Ekstraksi Antosianin

Ekstraksi dilakukan dengan teknik maserasi, dimana 100 g buah pucuk merah segar dihaluskan, kemudian direndam dengan empat sistem pelarut dalam kondisi asam, yaitu ; metanol dengan 0,1 % HCl (pH 1), metanol dengan 3% asam sitrat (pH 1,79), akuades dengan 0,1 % HCl (pH 1,01), dan akuades dengan 3% asam sitrat (pH 1,68). Maserasi dilakukan dalam botol berwarna gelap, selama semalam pada suhu ruang, kemudian ekstrak disaring dan ampasnya dimaserasi ulang sehingga didapatkan ekstrak dari buah pucuk merah dengan empat jenis ekstrak dari hasil perbedaan sistem pelarut. Ekstrak tersebut kemudian di *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut, sehingga didapatkan ekstrak pekat. Untuk keperluan analisis ekstrak pekat tersebut disimpan dalam botol tertutup yang dilapisi dengan aluminium foil pada lemari es dengan suhu -4°C. Bagan kerja tahap maserasi tersebut ditunjukkan pada lampiran 1.

### 3.7 Analisa Antosianin

#### 3.7.1 Analisa antosianin dengan spektrofotometer UV-Vis

Senyawa antosianin di analisa dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 250 - 700 nm. Data yang diperoleh dibandingkan dengan data yang terdapat pada literatur.

### 3.7.2 Variasi Konsentrasi

Ke 4 jenis ekstrak pekat tersebut kemudian divariasikan konsentrasinya dari konsentrasi 0,1%, 0,2 %, 0,3%, 0,4%, dan 0,5%. Gunanya untuk mengetahui konsentrasi yang tepat, kemudian digunakan untuk pengukuran selanjutnya. Tiap-tiap konsentrasi diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 250 – 700 nm.

### 3.7.3 Variasi pH

Dari spektrum UV-Vis hasil pengukuran variasi konsentrasi, konsentrasi yang tepat ini di variasikan pH nya yaitu pH 1, pH 3, pH 5, pH 7, dan pH 9, tiap-tiap ekstrak, untuk melihat kestabilan warna dari antosianin. Tiap-tiap variasi pH diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 250 – 700 nm.

### 3.7.4 Variasi Suhu

Selanjutnya sampel dengan pH 1 di variasikan suhunya yaitu 30°C, 45°C, 60°C, 75°C, 90°C, dan 100°C. Tiap-tiap variasi suhu diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 250 – 700 nm.

## 3.8 Penentuan Kadar Total Antosianin<sup>16</sup>

Kadar total monomer antosianin dan kadar total antosianin dalam sampel dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$A = (A_{\lambda \text{vismaks}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{\lambda \text{vismaks}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

$$\text{Kadar total Antosianin (mg/L)} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times b}$$

Dimana : MW = berat molekul sianidin-3-O-glukosida (g/mol)

DF = faktor pengenceran

$\epsilon$  = absorptivitas molar ( $\text{L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ )

b = tebal kuvet ( 1 cm)

1000 = pengubah g menjadi mg



### 3.9 Uji Antioksidan dengan Metode DPPH<sup>23</sup>

Penentuan absorbansi dari larutan DPPH dilakukan dengan dipipet sebanyak 3,8 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil 50  $\mu$ M dan ditambahkan dengan 0,2 mL metanol. Setelah dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm dan digunakan sebagai absorbansi kontrol.

Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan, dilakukan dengan ditimbang ekstrak sebanyak 25 mg, kemudian larutkan sampai 25 mL metanol dalam labu ukur 25 mL, maka didapatkan konsentrasi 0,1 % (b/v). Kemudian untuk penentuan aktivitas antioksidan dipipet sebanyak 0,2 mL larutan sampel dengan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam vial, kemudian ditambahkan 3,8 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil 50  $\mu$ M. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV - Vis pada panjang gelombang 515 nm, absorbansi digunakan sebagai absorbansi sampel. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal bebas melalui perhitungan persentase inhibisi serapan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100$$

Untuk penentuan nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibition Concentration*), dilakukan variasi konsentrasi mulai dari 0,1 % (b/v), 0,08 % (b/v), 0,06 % (b/v), 0,04% (b/v), 0,02 % (b/v), dan 0,01 % (b/v). terhadap vitamin C dan ekstrak yang memiliki persen inhibisi terbesar pada perlakuan awal. Bagan kerja tahap uji antioksidan tersebut ditunjukkan pada lampiran 2.

### 3.10 Aplikasi Pigmen Antosianin

Pigmen antosianin yang diperoleh di aplikasikan terhadap minuman yaitu susu *dadih* dan agar – agar ( jelly ), dimana minuman dan makanan yang digunakan berbeda tingkat keasamannya (pH). pH dari masing-masing minuman harus diketahui terlebih dahulu. Perlakuan terhadap aplikasi ini adalah variasi konsentrasi pada pH yang berbeda untuk melihat perubahan warna pigmen antosianin di dalam minuman dan makanan. Susu *dadih* dibuat dengan

melarutkan 2 g dalam 20 mL air dan diberi 2 mL ekstrak antosianin buah pucuk merah, kemudian agar – agar dibuat dengan menambahkan 1 g bubuk agar lalu dilarutkan dalam 50 mL air dan dipanaskan hingga mendidih, kemudian ditambahkan 2 mL ekstrak antosianin buah pucuk merah. Analisa dilakukan terhadap warna yang dipengaruhi oleh tingkat keasaman minuman dan makanan tersebut.





## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Uji Profil Fitokimia

Pada bagian buah dari tanaman pucuk merah *Syzygium campanulatum* Korth. dilakukan uji pendahuluan kandungan kimia (fitokimia), hasil yang didapatkan tercantum pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil uji pendahuluan kandungan kimia buah pucuk merah.

No	Kandungan kimia	Pereaksi	Hasil Uji
1.	Flavonoid	Mg/HCl	+
2.	Fenolik	FeCl <sub>3</sub>	+
3.	Alkaloid	Dragendorff / Meyer	-
4.	Triterpenoid	Liebermann-Burchard (LB)	+
5.	Steroid	Liebermann-Burchard (LB)	-
6	Saponin	Lapisan air	-
7..	Kumarin	NaOH 1 %	-

Keterangan : (+) = ada

(-) = tidak ada

Dari data diatas dapat diketahui bahwa buah dari tanaman pucuk merah mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, fenolik, dan triterpenoid, sementara untuk saponin, steroid, alkaloid, dan kumarin memberikan hasil uji yang negatif.

#### 4.2 Ekstraksi Antosianin

Ekstraksi yang dilakukan dengan metoda maserasi (perendaman) pada suhu ruang. Karena antosianin mudah teroksidasi oleh pengaruh suhu dan cahaya serta menghindari rusaknya senyawa antosianin maka di lakukan dengan keadaan gelap dimana digunakan botol berwarna gelap dan ditutup rapat, dan dilakukan remaserasi sebanyak dua kali untuk mengoptimalkan hasil ekstraksi. Hasil ekstraksi kemudian disimpan dalam lemari es pada suhu -4°C dengan botol gelap dan ditutup rapat. Dari hasil ekstraksi antosianin buah pucuk merah dengan sistem empat kondisi pelarut, dimana ekstrak yang didapat berwarna merah – ungu kehitaman seperti yang terlihat pada gambar dalam lampiran 3. Dari keempat

ekstrak tersebut mempunyai kadar ekstrak yang berbeda-beda, seperti yang terlihat dalam tabel 3 dibawah ini:

**Tabel 3:** Berat ekstrak antosianin buah pucuk merah dengan empat sistem pelarut.

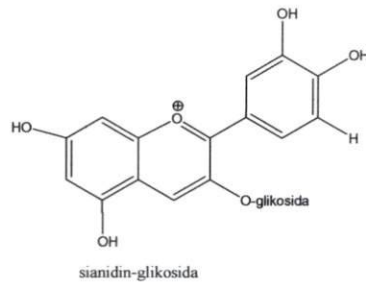
Ekstrak	Sistem Pelarut	Berat Ekstrak ( g /100 g)
A	Metanol + 0,1 % HCl	7,63
B	Metanol + 3% asam sitrat	20,3
C	Akuades + 0,1% HCl	9,45
D	Akuades + 3% asam sitrat	19,32

Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa senyawa antosianin yang terkandung didalam buah pucuk merah lebih stabil dan mudah larut dalam metanol + 3 % asam sitrat dan akuades + 3% asam sitrat yaitu berturut turut 20,03 g/100g dan 19,32 g/100g. Dari hasil dapat dilihat ekstrak tertinggi antosianin terdapat dalam sistem pelarut metanol yang diasamkan dengan asam sitrat, hal ini berarti senyawa antosianin yang terkandung dalam buah pucuk merah memiliki kepolaran yang hampir sama dengan metanol sehingga lebih banyak terekstrak dengan menggunakan pelarut metanol, dan kemudian pengaruh jenis asam juga mempengaruhi kestabilan antosianin, dimana antosianin buah pucuk merah lebih stabil dalam kondisi asam menggunakan asam organik yaitu asam sitrat, karena kemungkinan penggunaan asam yang kuat memungkinkan hidrolisis glikosida antosianin yang menyebabkan tidak stabilnya antosianin.

#### 4.3 Analisa Antosianin dengan Spektrofotometer UV-Vis

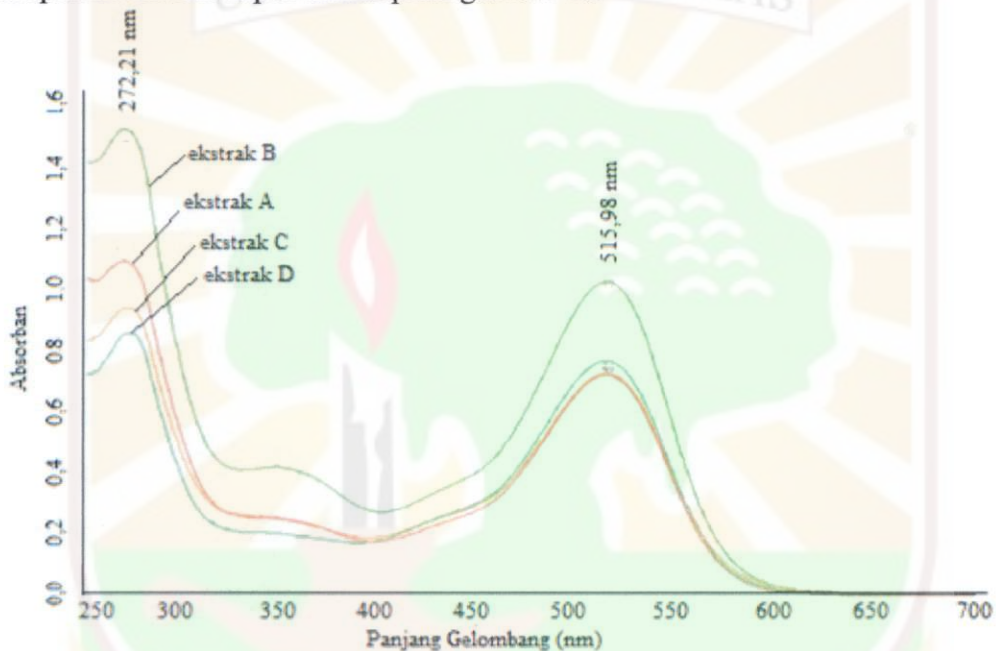
Senyawa antosianin mempunyai karakteristik dua daerah serapan pada panjang gelombang yaitu UV (260-280 nm) dan visibel (490-550 nm) dan diukur dengan alat spektrofotometer UV-Vis. Dari hasil pengukuran ke empat ekstrak yaitu ekstrak A, B, C, dan D didapat puncak dengan daerah panjang gelombang yang sama yaitu pada UV mempunyai kisaran  $\lambda_{maks}$  272,21 nm dan pada daerah visibel mempunyai kisaran  $\lambda_{maks}$  515,98 nm. Struktur dari senyawa sianidin-glikosida dapat dillihat pada Gambar 9.





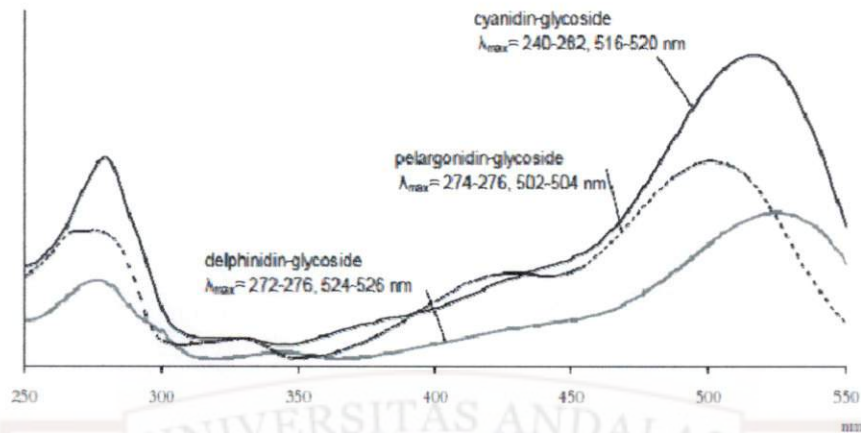
**Gambar 9 :** Struktur sianidin-glikosida yang terdapat dalam buah pucuk merah.

Berikut merupakan spektrum dari senyawa antosianin yang diekstrak dari buah pucuk merah. dapat dilihat pada gambar 10.



**Gambar 10 :** Spektrum khas senyawa antosianin pada ekstrak buah pucuk merah

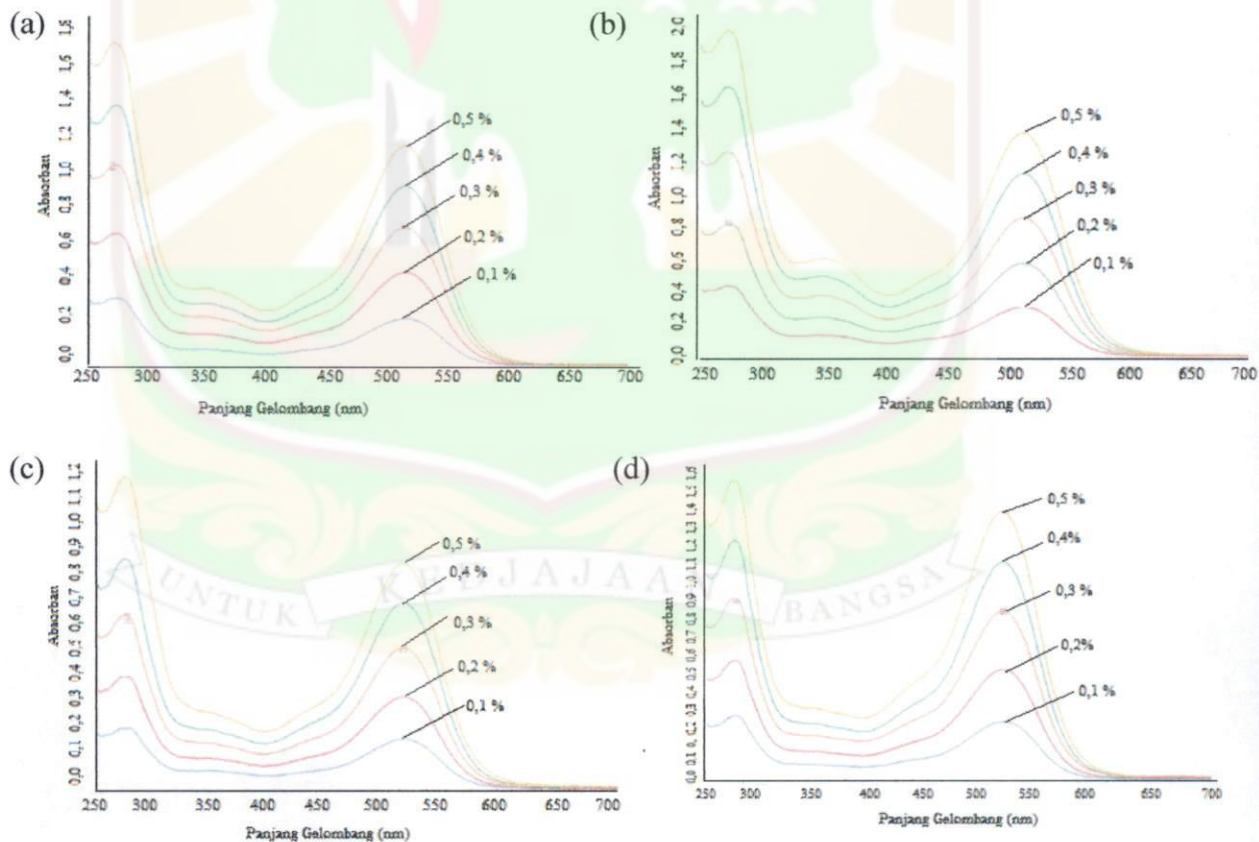
Dengan membandingkan penelitian yang dilakukan oleh Catalina Vasco, tahun 2009, melaporkan sianidin-glikosida merupakan pigmen yang banyak ditemukan sebagai heksosida ( glukosida dan/atau galaktosida), pentosida ( xylosida dan/atau arabinosida), dan rutinosida. Sianidin-glikosida memiliki serapan khas pada daerah UV yaitu pada kisaran 240-282 nm dan pada daerah Visibel terletak pada kisaran 516-520 nm. Dari perbandingan tersebut dapat dimungkinkan senyawa antosianin yang terkandung dalam ekstrak buah pucuk merah adalah sianidin-glikosida, spektrum sianidin-glikosida dapat dilihat pada gambar 11.<sup>24</sup>



**Gambar 11:** Spektrum dari tiga antosianin yang ditemukan dalam buah.

#### 4.4 Analisa Terhadap Perlakuan Konsentrasi

Variasi konsentrasi dilakukan dari 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, dan 0,5% (v/v) untuk keempat ekstrak tersebut. Spektrum variasi konsentrasi dari keempat ekstrak dapat dilihat pada gambar 12.



**Gambar 12 :** Spektrum UV-Vis variasi konsentrasi: (a) Ekstrak A, (b) Ekstrak B, (c) ekstrak C, dan (d) Ekstrak D dari buah pucuk merah.

Dari hasil pengukuran spektrum diatas, diambil konsentrasi 0,3% (v/v) untuk analisis selanjutnya, karena pada konsentrasi 0,3 % tersebut untuk keempat

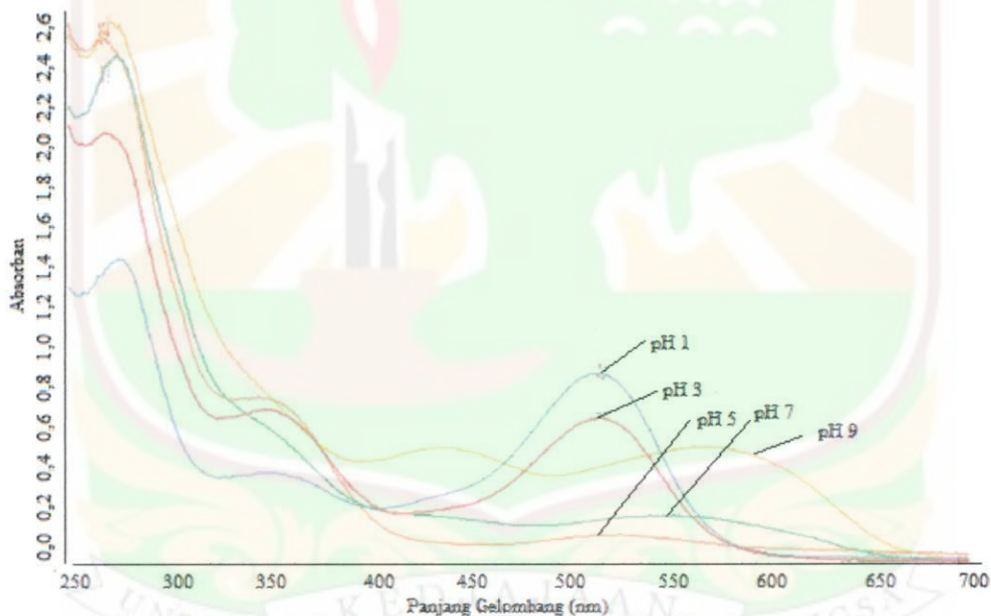


ekstrak memiliki nilai absorban kecil dari 1, gunanya untuk meminimumkan keasalahan fotometrik pada pengukuran.

Dari spektrum tersebut diatas dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi maka absorban dari larutan juga semakin besar, karena absorban merupakan fungsi konsentrasi. Konsentrasi mempengaruhi intensitas warna dari larutan, intensitas warna larutan ekstrak antosianin buah pucuk merah meningkat dengan meningkatnya konsentrasi, hal ini dapat dilihat pada gambar dalam lampiran 4.

#### 4.5 Analisa Terhadap Perlakuan pH

Antosianin akan berubah struktur dengan berubahnya pH, dimana antosianin lebih stabil pada kondisi asam yaitu pada kisaran pH 1-3. Berikut merupakan spektrum senyawa antosianin pada buah pucuk merah karena adanya perubahan pada berbagai tingkatan pH.



**Gambar 13 :** spektrum senyawa antosianin dari buah pucuk merah pada berbagai tingkatan pH.

Dalam ekstrak antosianin buah pucuk merah ini warna dari ekstrak pada keadaan asam pH 1 dan pH 3 adalah bewarna merah, hal ini menandakan antosianin masih stabil dalam kisaran pH 1-3, yaitu masih dalam bentuk ion oxonium nya. Namun dengan menurunnya derajat keasaman, antosianin berubah struktur.

Perubahan warna pada antosianin dalam tingkatan pH 5 mengarah ke tidak bewarna (*colorless*), hal ini disebabkan membentuk pseudobasa yang mulai

kehilangan warna pada rentang pH 4-6, kemudian bentuk pseudobasa ini mengalami tautomerik, keseimbangan antara bentuk keto dan bentuk enol menghasilkan alfa diketon, dan pada pH 7 dan pH 9 antosianin akan berubah struktur menjadi suatu basa kuinonoidal yang bewarna biru.<sup>16</sup>

Perubahan warna ekstrak antosianin buah pucuk merah terhadap pengaruh pH merupakan suatu indikator dari antosianin tersebut, karena dapat berubah warna terhadap faktor keasaman dan kebasaan dari larutannya. Perubahan warna lutan ekstrak antosianin buah pucuk merah dapat dilihat pada lampiran 5.

#### 4.6 Analisa Terhadap Perlakuan Suhu

Ekstrak antosianin buah pucuk merah diperlakukan terhadap pemanasan pada variasi suhu 30°C ( sebagai kontrol ), 45°C, 60°C, 75°C, 90°C, dan 100°C dilakukan pemanasan selama 30 menit pada waterbath, gunanya untuk melihat % degradasi atau kerusakan antosianin terhadap perlakuan suhu yang diberikan. Alasan mengambil variasi suhu diatas adalah untuk aplikasinya sebagai pewarna terhadap pengolahan makanan dan minuman, karena pada umumnya pengolahan makanan dan minuman dengan menggunakan sistem *aqueous* yang menggunakan suhu dengan titik didih air yaitu 100°C.

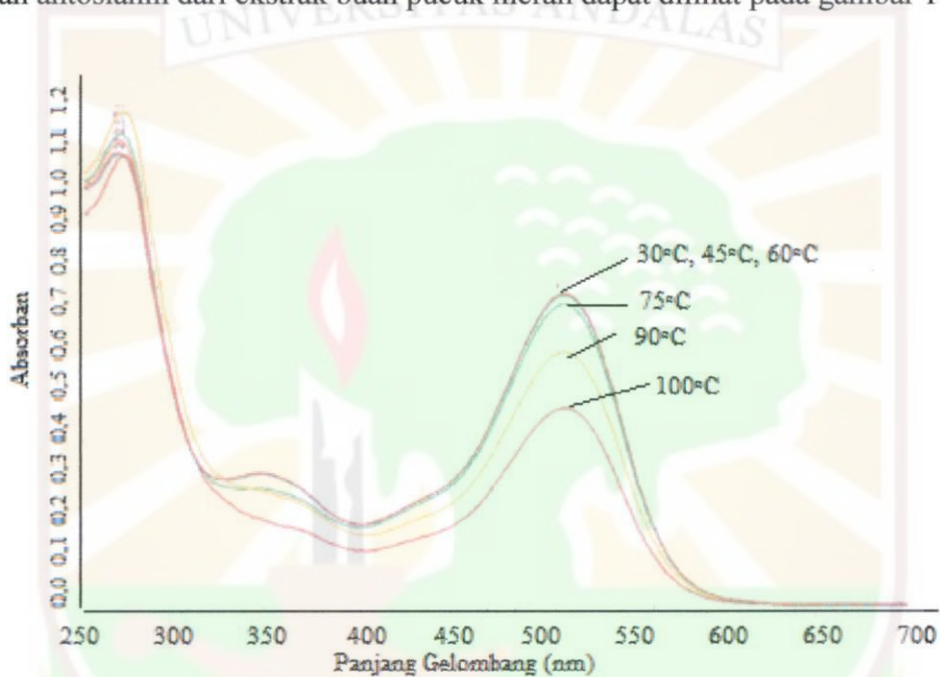
Dari hasil dapat dilihat bahwa rata – rata dari keempat jenis ekstrak mempunyai laju degradasi yang sama dimana persen degradasi yang tertinggi adalah 36,73 % pada ekstrak B pada suhu 100°C. Degradasi yang nyata pada senyawa antosianin yaitu setelah pada suhu 75°C keatas. Nilai persen degradasi tiap – tiap ekstrak buah pucuk merah dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4 :** Nilai persen degradasi warna dari antosianin tiap-tiap ekstrak.

Suhu Pemanasan ( °C)	Degradasi Warna (%)			
	Ekstrak A ( metanol + 0,1% HCl )	Ekstrak B ( metanol = 3% asam sitrat)	Ekstrak C ( akuades + 0,1 % HCl)	Ekstrak D (akuades + 3 % asam sitrat)
45	0,43	0,38	0,18	0,77
60	0,87	0,64	0,73	2,84
75	3,76	3,44	3,10	3,35
90	20,55	19,13	14,23	15,90
100	22,29	36,73	28,28	30,67



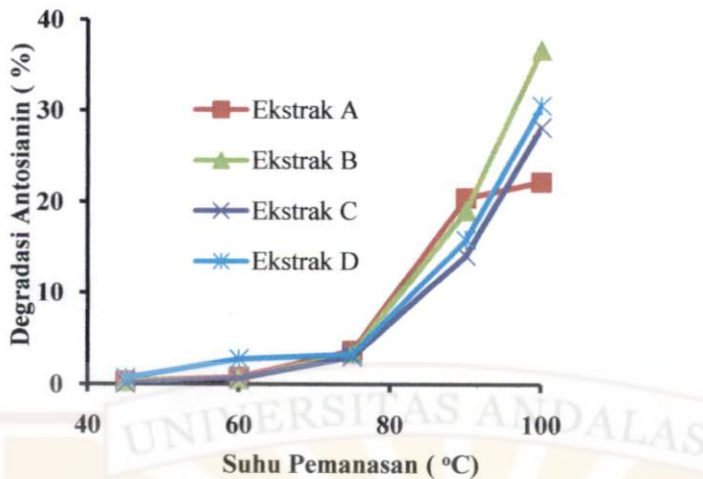
Semakin meningkatnya suhu pemanasan maka semakin berkurang intensitas warna dari larutan ekstrak antosianin buah pucuk merah, hal ini disebabkan karena terdegradasinya antosianin tersebut, degradasi antosianin dapat berupa putusnya ikatan glikosidik yang menyebabkan tidak stabilnya antosianidin serta terjadinya perubahan struktur antosianidin menjadi senyawa kalkon. Perubahan warna dan nilai persen degradasi warna dari ekstrak antosianin buah pucuk merah dapat dilihat pada lampiran 6 dan lampiran 7. Spektrum pengaruh suhu terhadap serapan antosianin dari ekstrak buah pucuk merah dapat dilihat pada gambar 14.



**Gambar 14:** Spektrum pengaruh suhu pemanasan terhadap serapan antosianin dari buah pucuk merah.

Berkurangnya intensitas warna terhadap kenaikan suhu pemanasan juga didukung dengan semakin menurunnya absorban pada daerah serapan visibel dari antosianin buah pucuk merah tersebut, hal ini menandakan rusak atau kurang stabilnya antosianin dalam buah pucuk merah terhadap suhu pemanasan yang semakin meningkat dan apalagi pada suhu 100°. Semakin lama waktu pemanasan dan jika suhu ditingkatkan juga, maka laju degradasi antosianin juga semakin meningkat karena menyebabkan semakin cepat rusaknya antosianin tersebut.

Berikut merupakan kurva hubungan suhu pemanasan terhadap persen degradasi antosianin tipe – tiap ekstrak, dapat dilihat pada gambar 15 dibawah ini.



**Gambar 15:** Kurva hubungan Suhu pemanasan dengan persen degradasi senyawa antosianin pada tiap – tiap ekstrak.

#### 4.7 Penentuan Kadar Total Antosianin

Hasil terhadap kadar total antosianin dalam tiap-tiap ekstrak yang dihitung dengan metode pH-diferensial, perhitungan penentuan kadar total antosianin buah pucuk merah dapat dilihat pada lampiran 8. Berikut merupakan nilai kadar total antosianin buah pucuk merah seperti yang terlihat pada Tabel 5.

**Tabel 5:** Total antosianin buah pucuk merah dengan berbagai sistem pelarut.

Ekstrak	Sistem Pelarut	Total antosianin ( mg /L)
A	Metanol + 0,1 % HCl	439,69
B	Metanol + 3% asam sitrat	462,51
C	Akuades + 0,1% HCl	347,86
D	Akuades + 3% asam sitrat	446,93

Kondisi pengasaman dengan asam lemah ini menghindari hidrolisis ikatan glikosidik pada antosianin sehingga kestabilan antosianin meningkat dibandingkan dengan kondisi yang sangat asam akan mudah antosianin terhidrolisis. Selain itu perbandingan asam yang digunakan berbeda, karena HCl merupakan asam mineral yang merupakan asam kuat dimana derajat disosiasinya tinggi karena terion sempurna dalam larutan sehingga dengan penambahan sedikit HCl dalam pelarut akan memberikan pH yang sangat asam.

Sedangkan asam sitrat adalah asam organik lemah yang memiliki kekuatan disosiasi sebesar  $7,21 \times 10^{-4}$ .<sup>25</sup> Asam sitrat ini dalam larutannya akan membentuk kesetimbangan dimana ion hidrogen tidak terdisosiasi sempurna, sehingga



keasamannya lebih stabil, namun dengan jumlah yang lebih besar dari asam mineral seperti HCl untuk dapat memberikan sistem yang sangat asam yaitu mendekati pH 1-3. Pada kisaran pH 1-3 tersebut memungkinkan ekstraksi antosianin untuk mendapatkan hasil yang maksimum. Keadaan inilah yang membuat ekstrak antosianin jauh lebih banyak terkstrak pada pelarut yang diasamkan dengan asam sitrat, karena selain hal itu semakin asam suatu larutan juga akan menyebabkan terhidrolisisnya ikatan glikosidik antosianin yang akan berakibatkurang stabilnya antosianin, sehingga menjadi rusak senyawa antosianin tersebut.<sup>2</sup>

#### 4.8 Uji Antioksidan Antosianin

Uji antioksidan dari antosianin buah pucuk merah dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Dari uji pendahuluan terhadap keempat ekstrak, dengan konsentrasi yang sama yaitu 0,1 % (b/v) dapat dilihat pada tabel 6 dibawah ini :

**Tabel 6:** nilai daya inhibisi terhadap radikal bebas tiap – tiap ekstrak antosianin buah pucuk merah.

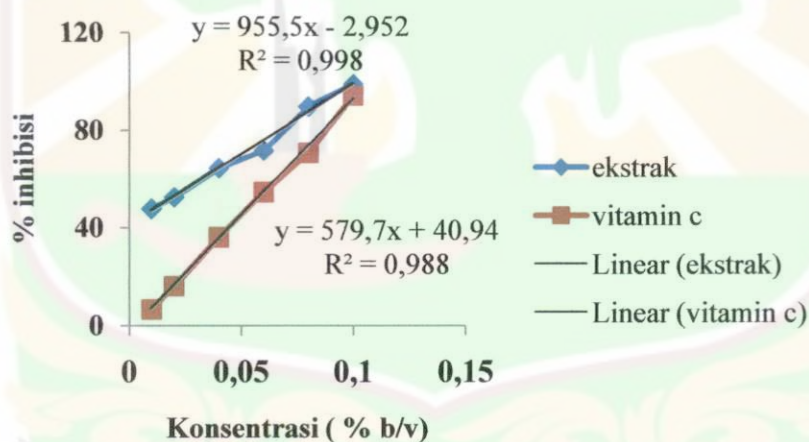
Ekstrak	Sistem Pelarut	Daya inhibisi (%)
A	Metanol + 0,1 % HCl	75,86
B	Metanol + 3% asam sitrat	81,99
C	Akuades + 0,1% HCl	90,42
D	Akuades + 3% asam sitrat	93,49

Kemampuan menghambat radikal bebas paling tinggi dari antosianin yang terkandung dalam keempat ekstrak tersebut adalah dari ekstrak D ( akuades dengan asam sitrat) yaitu 93,49 %. Namun keempat ekstrak tersebut memberikan respon yang cukup besar daya hambatnya terhadap radikal bebas. Hal ini memungkinkan senyawa antosianin yang bersifat penangkap radikal bebas yang memiliki banyak gugus penangkap radikal bebas dan yang lebih aktif terhadap radikal bebas terdapat dalam pelarut akuades dibandingkan dengan metanol. Untuk perlakuan selanjutnya digunakan ekstrak D dalam mencari nilai IC<sub>50</sub> yang dibandingkan dengan vitamin C sebagai pembanding dari aktivitas antioksidan. Berikut merupakan data persen inhibisi dari ekstrak D dan Vitamin C dalam berbagai konsentrasi, dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 7 :** nilai daya inhibisi berbagai konsentrasi Ekstrak D dan Vitamin C.

Konsentrasi (% b/v)	Daya Inhibisi (%)	
	Ekstrak D ( akuades + 3% asam sitrat)	Vitamin C
0,1	94,32	99,10
0,08	70,75	89,85
0,06	54,63	71,64
0,04	36,12	64,48
0,02	16,12	52,54
0,01	6,57	47,76

Selanjutnya persamaan regresi yang diperoleh dari grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan persen penghambatan DPPH digunakan untuk mencari nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration*) tersebut. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH.<sup>26</sup> Persamaan regresi dari ekstrak D dan Vitamin C dapat dilihat pada gambar 16 dibawah ini.



**Gambar 16:** Kurva regresi antara konsentrasi dengan % inhibisi dari ekstrak D dan Vitamin C.

Dari persamaan regresi diatas didapat nilai  $IC_{50}$  untuk ekstrak D yaitu pada konsentrasi 0,055 % (b/v), dan untuk Vitamin C yaitu 0,016 % (b/v). Dari nilai  $IC_{50}$  tersebut dapat dilihat bahwa daya hambat Vitamin C lebih besar dibandingkan dengan ekstrak D, ini berarti konsentrasi dari vitamin C lebih sedikit daripada ekstrak D untuk menghambat radikal bebas pada daya hambat 50%. Semakin kecil konsentrasi untuk menghambat radikal bebas maka semakin bagus kemampuan aktivitas antioksidannya. Namun kemampuan aktivitas



antioksidan ekstrak D dan vitamin C memiliki kemampuan aktif terhadap radikal bebas, karena kemampuan suatu senyawa sebagai antioksidan, dinyatakan dengan  $IC_{50}$  pada konsentrasi kurang dari 0,1 % (b/v).<sup>27</sup> Perhitungan penentuan nilai persen inhibisi dan penentuan nilai  $IC_{50}$  dapat dilihat pada lampiran 9.

#### 4.9 Aplikasi Antosianin

Untuk pengujian aplikasi ekstrak antosianin diambil sampelnya yaitu susu *dadiah* dan agar-agar (jelly). Penambahan ekstrak buah pucuk merah terhadap minuman dan makanan ini ditujukan untuk melihat pengaruh keasaman terhadap perubahan warna dari sampel setelah diberikan ekstrak. Dapat dilihat warna dari susu *dadiah* dan jelly setelah ditambahkan ekstrak antosianin dari buah pucuk merah pada gambar 17 dibawah ini.



**Gambar 17:** (a) perubahan warna dari tiap ekstrak terhadap susu *dadiah*,  
(a) perubahan warna dari tiap ekstrak terhadap jelly.

Keasaman dari susu *dadiah* sebelum ditambah ekstrak adalah 5, dan setelah ditambah ekstrak menjadi 3, sedangkan untuk jelly kondisi asam setelah ditambah ekstrak adalah 4. Faktor penting dalam aplikasi antosianin sebagai pigmen alami terhadap makanan dan minuman adalah kestabilannya terhadap pH. Ada beberapa keuntungan menggunakan antosianin sebagai bahan pewarna pada makanan ataupun minuman, diantaranya sebagai pewarna alami yang dapat menggantikan pewarna sintetik, tidak berbahaya bagi tubuh karena pewarna yang digunakan adalah berasal bahan alami, dan antosianin ini bersifat sebagai antioksidan, yang secara tak langsung kita mengonsumsi zat antioksidan yang dibutuhkan oleh tubuh.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

1. Antosianin pada buah pucuk merah diprediksikan adalah senyawa sianidin-glikosida, yang menyerap pada  $\lambda_{\text{uvmaks}}$  272,21 nm dan pada daerah Visibel mempunyai kisaran  $\lambda_{\text{vismaks}}$  515,98 nm.
2. Kadar total antosianin paling tinggi adalah ekstrak B ( metanol + 3% asam sitrat) sebesar 462,51 mg/L, kemudian ekstrak D ( akuades + 3% asam sitrat) 446,93 mg/L, ekstrak A (metanol + 0,1 % HCl) 439,69 mg/L dan kadar terendah adalah ekstrak C ( akuades + 0,1 % asam sitrat ) sebesar 347,86 mg/L.
3. Kestabilan antosianin pada buah pucuk merah berkisar antara pH 1-3, dan persen degradasi terhadap pengaruh suhu meningkat secara nyata pada suhu 75°C dan di atasnya.
4. Aktivitas antioksidan paling tinggi pada ekstrak D ( akuades + 3% asam sitrat) yaitu 93,49 % dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 0,055%(b/v). Nilai konsentrasi  $\text{IC}_{50}$  ekstrak D ( akuades + 3% asam sitrat) lebih rendah daripada konsentrasi  $\text{IC}_{50}$  vitamin C sebesar 0,016 % (b/v).Aktivitas antioksidan terbilang aktif karena konsentrasi nilai  $\text{IC}_{50}$  dibawah 0,1%(b/v).
5. Aplikasi makanan dan minuman pada jelly dan susu *dadih* memiliki warna yang berbeda-beda dari tiap ekstrak yang dipengaruhi oleh kestabilan antosianin dalam makanan dan minuman tersebut.

#### 5.1 Saran

1. Perlu dilakukan pemurnian terhadap ekstrak antosianin dan karakterisasi lebih lanjut seperti HPLC, LC-MS dan NMR.
2. Untuk aplikasi terhadap perubahan warna yang terjadi karena penambahan antosianin ke dalam makanan dan minuman diperlukan adanya panelis sebagai penilai.
3. Meneliti pengaruh cahaya dan masa penyimpanan terhadap kestabilan senyawa antosianin.



## DAFTAR PUSTAKA

1. La Ode Sumarlin .*Identifikasi Pewarna Sintetis Pada Produk Pangan Yang Beredar di Jakarta dan Ciputat*. Program Studi Kimia FST UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta. Hal 274-275.
2. Nanda Lindya Tri Eko.2008. *Aplikasi Ekstrak Antosianin Buah Duwet (Syzigium cumini) pada Produk Jelly, Yogurt, dan Minuman Berkarbonasi*. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal 6-7.
3. M. Alaudin, Nuni Widiarti . 2009. *Sosialisasi Pembuatan Ekstrak Pewarna Alami Bagi Ibu Ibu Pkk Desa Sukorejo Kecamatan Gunungpati Semarang*. Jurusan Kimia, FMIPA. Universitas Negeri Semarang. Hal 3.
4. Ariviani, Setyaningrum. 2010. *Kapasitas Anti Radikal Ekstrak Antosianin Buah Salam (Syzygium Polyanthum) Segar Dengan Variasi Proporsi Pelarut*. Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan UNS. Caraka Tani XXV No.1 Maret 2010, Hal 44.
5. Passamonti, S., Vrhovsek, U., Vanzo, A., & Mattivi, F. (2003). *The stomach as a site for anthocyanins absorption from food*. FEBS Letters, 544, 210–213.
6. Bennita Leimena, Beatrice. 2008. *Karakterisasi dan Purifikasi Antosianin Pada Buah Duwet (Syzygium cumini)*. Skripsi. Fakultas teknologi pertanian Institut pertanian bogor. Bogor.
7. Armour Publishing Pte Ltd. 2009. *Tress of Our garden city*. National Parks Board. Singapore. edition 2<sup>nd</sup> Hal 184-185.
8. Ni Wayan S.S, Gusti R.S, Teguh W, dan Muhidin. 2011. *Pengujian Kadar Antosianin Padi Gogo Beras Merah Hasil Koleksi Plasma Nutfah Sulawesi Tenggara*. Fakultas Pertanian Universitas Haluoleo, Kampus Baru Bumi Tridharma, Andounohu, Kendari. Crop Agro Vol. 4 No.2 – Juli 2011. Hal 44.
9. Paul CH Li, Michael CK Wong, Hans Adomat and Emma S Tomlinson Guns. 2009. *Blueberry anthocyanins analyzed by absorption spectroscopy and HPLC-UV-MS*. *Canadian journal of pure & applied sciences an international journal*. Vol 3 No.2 June Senra, Academic Publisher Burnaby, British Columbia. Hal 765-766.
10. Weining Niu, Yan Ding, Xiaoya Shang, Chunlan Xu Xi'an, Shaanxi, P. R Chuan-guang Qin, and Yang Li. 2011. *Composition Analysis and Structural Identification of Anthocyanins in Fruit of Waxberry*.China. Czech J. Food Sci. Vol. 29, No. 2. Hal 171-172.
11. F. Delgado-Vargas, A. R. Jiménez, and O. Paredes-López. 2000. *Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains —Characteristics,*

*Biosynthesis, Processing, and Stability*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Hal 231-233.

12. K. Gould, Kevin Davies, and Chris Winefield. 2009. *Anthocyanin Biosynthesis, functions and applications*. Springer, New Zealand . Hal 51-56.
13. Susanti, Hilda . 2012. *Produksi Protein dan Antosianin Pucuk Kolesom (talinum triangulare (jacq.) willd) Dengan Pemupukan Nitrogen+Kalium dan Interval Panen*. Tesis. pascasarjana institut pertanian bogor . Bogor. Hal 42-43.
14. Turkan Kutlu, Gokhan Durmaz, Burhan Ates, İsmet Yilmaz1, and M. Şevket Cetin. 2009. *Antioxidant Properties Of Different Extracts Of Black Mulberry (Morus nigra L.)*. Turkei. Hal 104-105.
15. M. G. Miguel. 2011. Anthocyanins: Antioxidant and/or anti-inflammatory Activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Portugal. Hal 4-5.
16. M. Mónica Giusti and Ronald E. Wrolstad .2001. *Characterization and Measurement of UNIT F1.2 (anthocyanin)Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy*. Contributed by Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Hal 6-11.
17. Anonim. 2007. *Modul Kuliah Spektroskopi*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta. Hal 4-13.
18. Ilham Kuncahyo, dan Sunardi .2007. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi, L.) Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH)*. Seminar Nasional Teknologi Yogyakarta, 24 November 2007. Hal 2-3.
19. Pratimasari, Diah. 2009. *uji aktivitas penangkap radikal buah Carica papaya L. dengan metode DPPH dan penetapan kadar fenolik serta flavonoid totalnya*. fakultas farmasi universitas muhammadiyah surakarta surakarta. Hal 6-12.
20. Widyastuti, Niken .2010. *Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta korelasinya dengan fenol dan flavonoid pada enam tanaman*. Jurusan Kimia. FMIPA IPB. Bogor. Hal 1-2.
21. Ham, Mulyono.2006. *Membuat reagen kimia di laboratorium*. Bumi aksara. Jakarta. Hal 164-182.
22. Eka Saputra, Dedy. 2011. *Isolasi Senyawa Triterpenoid Pada Fraksi Etil Asetat Dari Ekstrak Daun Sukun (artocarpus altilis, (park) fosberg)*. Skripsi. Jurusan kimia. FMIPA. Universitas Andalas. Padang. Hal 23-24.
23. Okawa, M., J. Kinjo, T. Nohara and M.ono.2001. *Modification Method*



"DPPH 92-2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radical Scavenging Activity Of Flavonoids Obtained From Some Medical Plants. Bio. Pharm. Bull., Hal 23-26.

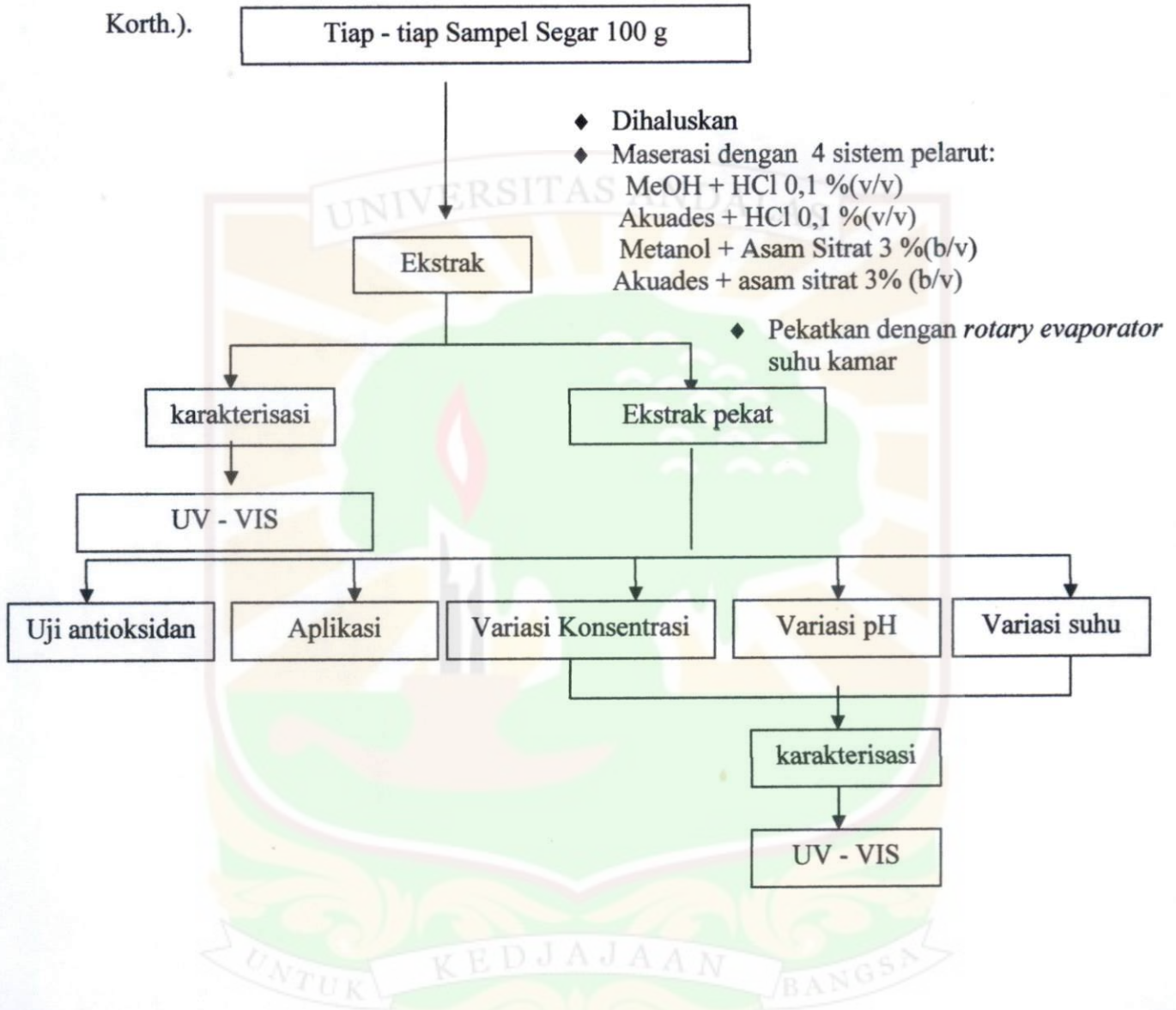
24. Catalina Vasco. 2009. *Phenolic Compounds in Ecuadorian Fruits*. Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences.Uppsala. Hal 42
25. Tensiska, een, sukarminahdan, dan dita natalia. 2004. *Ekstraksi Pewarna Alami Dari Buah Arben (Rubus idaeus (linn.)) dan Aplikasinya Pada Sistem Pangan*. Unpad. Hal 8
26. Mintowati K.E, dan Dewi A.M. 2010. *Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (Eleutherine americana Merr.)* Vol. 4 No. 1. Sains dan Terapan Kimia. FMIPA UNLAM. Hal 18-19.
27. Rosyidah K, Siska, dan Dewi A.M. 2011. *Isolasi Senyawa Antioksidan Dari Kulit Batang Tumbuhan Binjai (Mangifera caesia)*. Vol.5 No.1. *Sains dan Terapan Kimia*. FMIPA UNLAM. Hal 12



## LAMPIRAN

### Lampiran 1

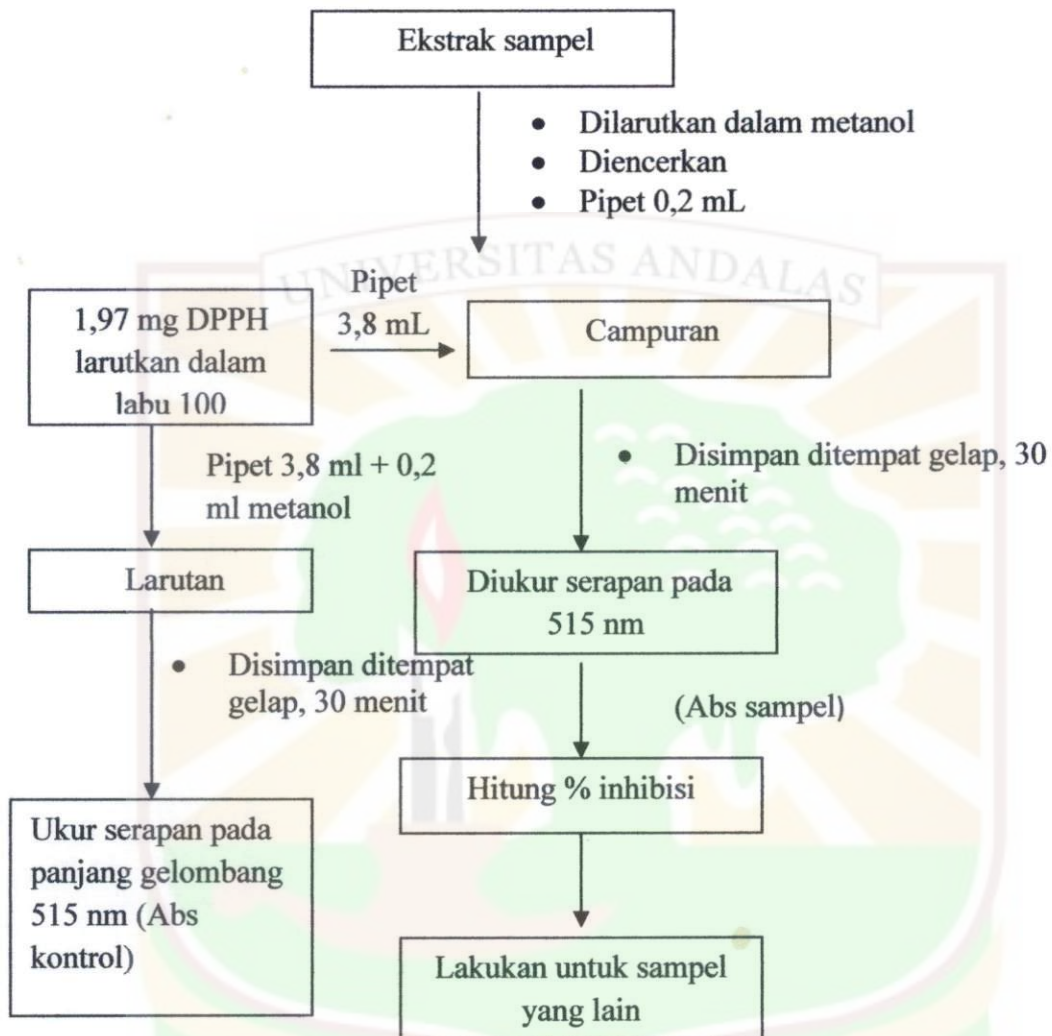
Skema kerja metoda ekstraksi buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth.).





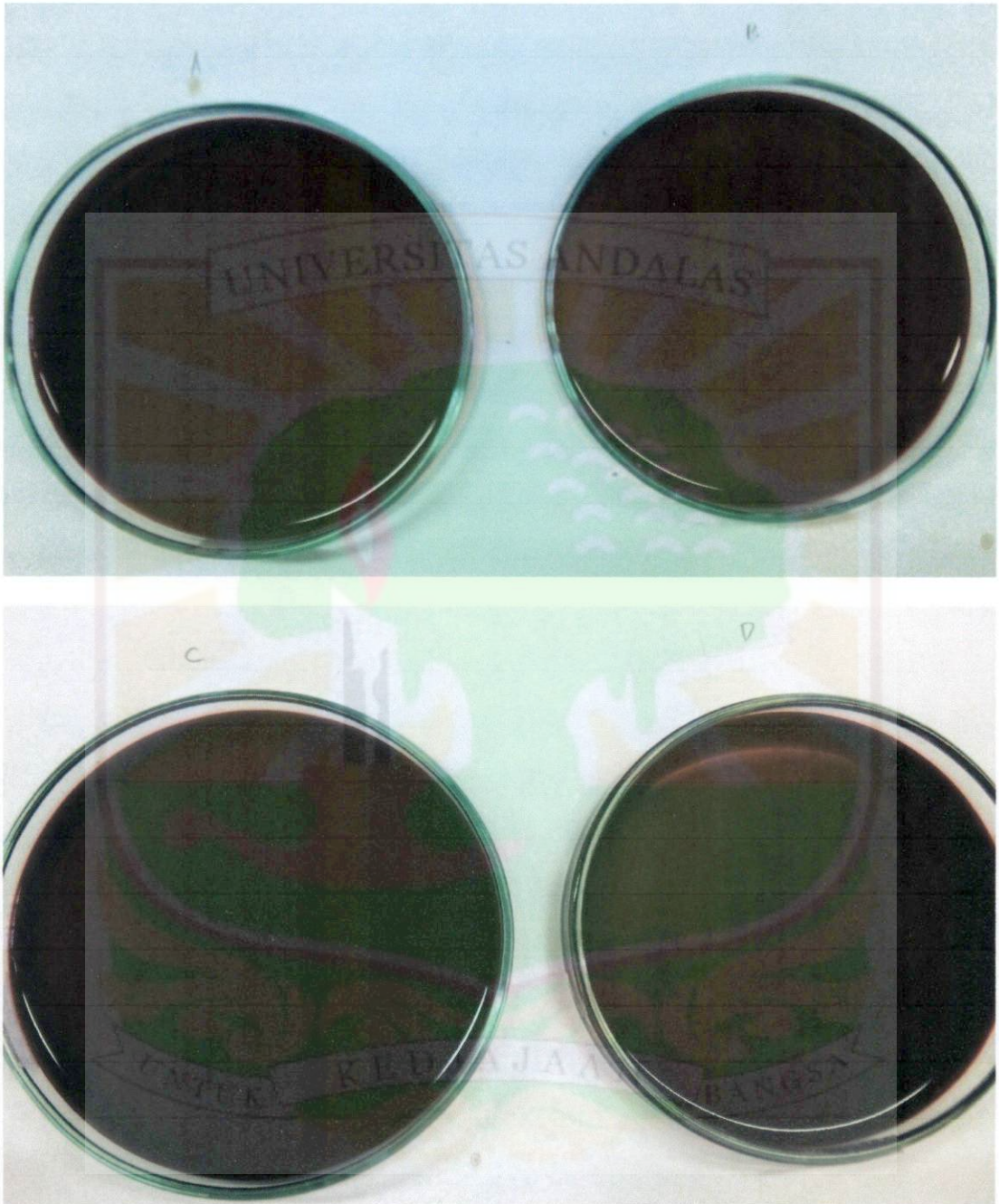
## Lampiran 2

Skema kerja uji aktifitas senyawa aktif terhadap penangkapan radikal bebas.



### Lampiran 3

Gambar ekstrak antosianin buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Kroth.).



Keterangan : A ; ekstrak metanol HCl 0,1 % ( ekstrak A), B ; ekstrak metanol asam sitrat 3%, (ekstrak B) C ; ekstrak akuades HCl 0,1 %,(ekstrak C) dan D ; ekstrak akuades asam sitrat 3% (ekstrak D).



#### Lampiran 4

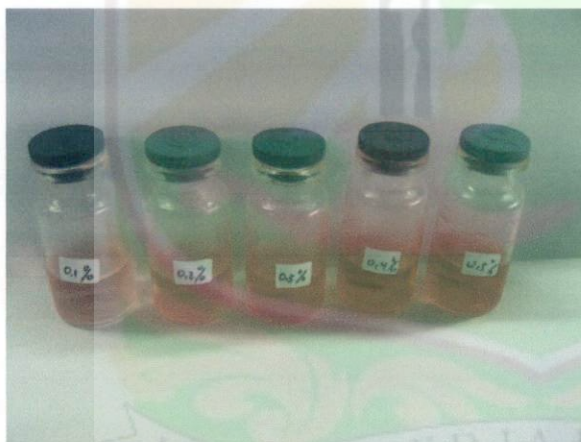
Gambar perubahan larutan ekstrak antosianin buah pucuk merah yang divariasikan konsentrasinya dalam buffer 1.



(a)



(b)



(c)



(d)

Keterangan : (a) Ekstrak A (metanol HCl 0,1 % (v/v)), (b) ekstrak B ( metanol asam sitrat 3% (b/v)), (c) ekstrak C ( akuades HCl 0,1 % (v/v), dan (d) ekstrak D ( akuades asam sitrat 3% (b/v)).

## Lampiran 5

Gambar larutan ekstrak antosianin buah pucuk merah dalam berbagai tingkatan pH tiap – tiap ekstrak.



(a)



(b)



(c)



(d)

Keterangan : (a) Ekstrak A (metanol HCl 0,1 %(v/v)), (b) ekstrak B ( metanol asam sitrat 3% (b/v), (c) ekstrak C ( akuades HCl 0,1 % (v/v), dan (d) ekstrak D ( akuades asam sitrat 3% (b/v).



## Lampiran 6

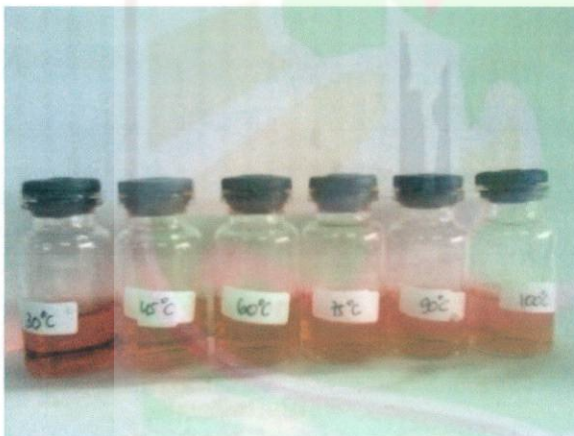
Gambar pada buffer 1 terhadap perubahan warna larutan ekstrak antosianin buah pucuk merah terhadap pengaruh suhu.



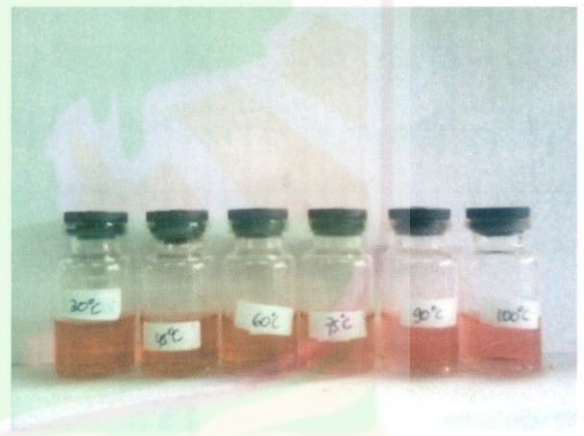
(a)



(b)



(c)



(d)

Keterangan : (a) Ekstrak A (metanol HCl 0,1 %(v/v)), (b) ekstrak B ( metanol asam sitrat 3% (b/v), (c) ekstrak C ( akuades HCl 0,1 % (v/v), dan (d) ekstrak D ( akuades asam sitrat 3% (b/v).

## Lampiran 7

Perhitungan persen degradasi zat warna karena pengaruh suhu pemanasan ekstrak B antosianin buah pucuk merah.

- a. Tabel nilai absorban tiap – tiap karena pengaruh suhu

Suhu Pemanasan ( °C)	Absorban			
	Ekstrak A	Ekstrak B	Ekstrak C	Ekstrak D
30	0,691	0,784	0,548	0,776
45	0,688	0,781	0,547	0,770
60	0,685	0,779	0,544	0,754
75	0,665	0,757	0,531	0,750
90	0,549	0,634	0,470	0,652
100	0,537	0,496	0,393	0,538

- b. Perhitungan degradasi warna (%)

$$\text{Total sisa Antosianin (\%)} = \frac{\text{absorban setelah perlakuan}}{\text{absorban sebelum perlakuan}} \times 100 \%$$

$$\text{Degradasi warna (\%)} = 100 \% - \text{total sisa antosianin}$$

Suhu 30°C sebagai kontrol ( sebelum perlakuan ), dengan nilai absorban 0,784.

1. Suhu 45°C

$$\text{Degradasi warna (\%)} = \frac{0.784 - 0.781}{0.784} \times 100 = 0,38$$

2. Suhu 60°C

$$\text{Degradasi warna (\%)} = \frac{0.784 - 0.779}{0.784} \times 100 = 0,64$$

3. Suhu 75°C

$$\text{Degradasi warna (\%)} = \frac{0.784 - 0.757}{0.784} \times 100 = 3,44$$

4. Suhu 90°C

$$\text{Degradasi warna (\%)} = \frac{0.784 - 0.634}{0.784} \times 100 = 19,13$$

5. Suhu 100°C

$$\text{Degradasi warna (\%)} = \frac{0.784 - 0.496}{0.784} \times 100 = 36,73$$



## Lampiran 8

Perhitungan kadar total antosianin dengan metoda pH differensial.

$$A = (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

$$\text{Kadar total Antosianin (mg/L)} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Dimana : MW = berat molekul sianidin-3-O-glukosida (g/mol)

DF = faktor pengenceran

$\epsilon$  = molar absorpsifitas ( $\text{L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ )

$l$  = tebal kuvet (1 cm)

1000 = pengubah g menjadi mg

### a. Ekstrak A

$$A = (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

$$A = (0.871 - 0.001) - (0.081 - 0.001)$$

$$A = 0,790$$

$$\text{Kadar Total Antosianin (mg/L)} = \frac{0.790 \times 449.2 \times 33.33 \times 1000}{26900 \times 1} = 439,69$$

### b. Ekstrak B

$$A = (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

$$A = (0.963 - 0.026) - (0.132 - 0.026)$$

$$A = 0,831$$

$$\text{Kadar Total Antosianin (mg/L)} = \frac{0.831 \times 449.2 \times 33.33 \times 1000}{26900 \times 1} = 462,51$$

c. **Ekstrak C**

$$A = (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

$$A = (0.739 - 0.018) - (0.114 - 0.018)$$

$$A = 0,625$$

$$\text{Kadar Total Antosianin (mg/L)} = \frac{0.625 \times 449.2 \times 33.33 \times 1000}{26900 \times 1} = 347,86$$

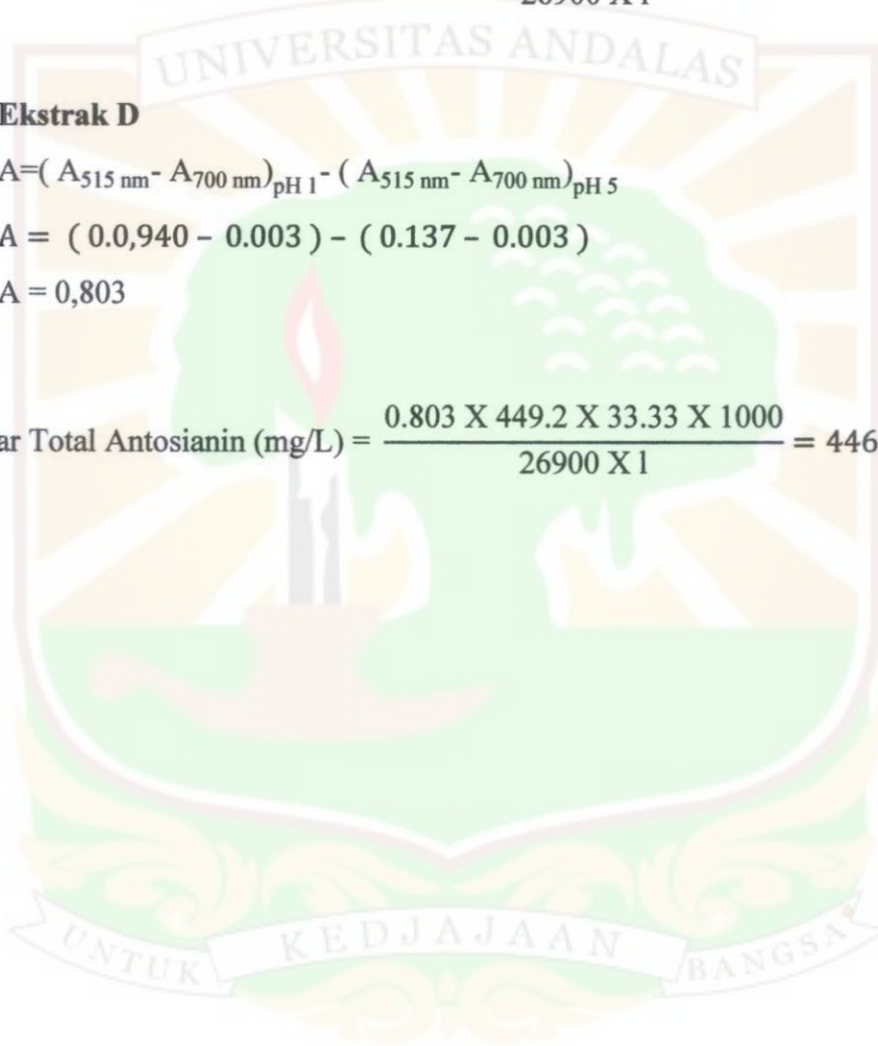
d. **Ekstrak D**

$$A = (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

$$A = (0.0,940 - 0.003) - (0.137 - 0.003)$$

$$A = 0,803$$

$$\text{Kadar Total Antosianin (mg/L)} = \frac{0.803 \times 449.2 \times 33.33 \times 1000}{26900 \times 1} = 446,93$$





## Lampiran 9

### a. Tabel uji pendahuluan terhadap tiap-tiap ekstrak

Larutan	Absorban $\lambda_{\text{maks}}$ 515 nm	Daya inhibisi (%)
DPPH (kontrol)	0,261	-
Ekstrak A	0,063	75,86
Ekstrak B	0,047	81,99
Ekstrak C	0,025	90,42
Ekstrak D	0,017	93,49

Perhitungan persen inhibisi aktivitas antioksidan

#### 1. Ekstrak A

$$\text{Daya inhibisi (\%)} = \frac{0.261 - 0.063}{0.261} \times 100 = 75,86$$

#### 2. Ekstrak B

$$\text{Daya inhibisi (\%)} = \frac{0.261 - 0.047}{0.261} \times 100 = 81,99$$

#### 3. Ekstrak C

$$\text{Daya inhibisi (\%)} = \frac{0.261 - 0.025}{0.261} \times 100 = 90,42$$

#### 4. Ekstrak D

$$\text{Daya inhibisi (\%)} = \frac{0.261 - 0.017}{0.261} \times 100 = 93,49$$

### b. Nilai persen inhibisi dan nilai $IC_{50}$ ekstrak D dan vitamin C.

Konsentrasi (%) b/v)	Absorban $\lambda_{\text{maks}}$ 515 nm		Daya inhibisi (%)	
	Ekstrak D	Vitamin C	Ekstrak D	Vitamin C
0,1	0,017	0,003	94,32	99,10
0,08	0,098	0,034	70,75	89,85
0,06	0,152	0,095	54,63	71,64
0,04	0,214	0,119	36,12	64,48
0,02	0,281	0,159	16,12	52,54
0,01	0,313	0,175	6,57	47,76
Kontrol DPPH	0,335		-	

Perhitungan nilai  $IC_{50}$  berdasarkan persamaan regresi antara konsentrasi dengan persen inhibisi dari ekstrak D dan vitamin C.

#### 1. Ekstrak D

$$Y = 955,5X - 2,952$$

$$50 = 955,5X - 2,952$$

$$X = 0,055 \text{ (jadi nilai } IC_{50} = 0,055 \% \text{ (b/v))}$$

#### 2. Vitamin C

$$Y = 579,7X + 40,94$$

$$50 = 579,7X + 40,94$$

$$X = 0,016 \text{ (jadi nilai } IC_{50} = 0,016 \% \text{ (b/v))}$$

## Lampiran 10

Surat Keterangan Hasil Identifikasi Tanaman Pucuk merah ( *Syzygium campanulatum* Korth.) di Herbarium Unand ( ANDA).



### HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar  
Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. \*811 e-mail: [nas\\_herb@yahoo.com](mailto:nas_herb@yahoo.com)

Nomor : 101/K-ID/ANDA/VI/2012  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada Yth,  
Sukmaning Syahri  
Di  
Padang

Dengan hormat,  
Sehubungan dengan surat anda mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di  
Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah  
membantu mengidentifikasi tumbuhan yang anda bawa, atas nama:

Nama : Sukmaning Syahri  
NIM : 0810412036  
Instansi : Kimia UNAND

Berikut ini diberikan hasil identifikasi specimen yang dikeluarkan dari Herbarium  
Universitas Andalas.

No	Family	Spesies
1	Myrtaceae	<i>Syzygium campanulatum</i> Korth.

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 19 Juni 2012  
a.n Kepala



Nurainas, M.Si.  
NIP. 196908141995122001